

Aus der  
Medizinischen Klinik und Poliklinik V  
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Jürgen Behr

**Lungentransplantation:**  
**Über die Bedeutung von HLA-Antikörpern für das Bronchiolitis obliterans Syndrom**  
**unter Berücksichtigung bekannter Risikofaktoren**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Benedikt Martin

aus Augsburg

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Dr. Nikolaus Kneidinger

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Jan Groetzner

PD Dr. med. Antje Habicht

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 01.03.2018

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>3</b>
1.1 Die Lungentransplantation im Kontext der chronischen Abstoßung .....	3
1.1.1 Allgemeine Einführung .....	3
1.1.2 Chronisches Lungentransplantat Versagen (CLAD) .....	3
1.1.2.1 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom .....	4
1.1.2.2 Restriktives Allograft Syndrom .....	6
1.2 Antikörper-vermittelte Abstoßung (AMR) .....	6
1.2.1 Einführung .....	6
1.2.2 Das humane Leukozytenantigen-System .....	7
1.2.3 Methoden zur Detektion von HLA-Antikörpern .....	7
1.2.4 Bedeutung von C4d .....	9
1.2.5 AMR im Kontext der Nierentransplantation .....	9
1.3 AMR im Kontext der Lungentransplantation .....	10
1.3.1.1 Hyperakute Abstoßung .....	10
1.3.1.2 Akute humorale Abstoßung .....	11
1.3.1.3 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom .....	13
1.4 Zusammenfassung und Ziel der Studie .....	14
<b>2. Methodik und Statistik .....</b>	<b>16</b>
2.1 Allgemeines Studiendesign .....	16
2.2 Datenerfassung .....	16
2.3 Definitionen und Quellen .....	17
2.3.1 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom .....	17
2.3.2 Akute zelluläre Abstoßungsreaktion .....	18
2.3.3 Ischämiezeit .....	19
2.3.4 CMV-Status und CMV-Mismatch .....	20
2.3.5 Primäre Transplantatdysfunktion (PGD) .....	20
2.3.6 Immunsuppressive Erhaltungstherapie .....	21
2.3.7 Detektion der HLA-Antikörper .....	21
2.4 Statistik .....	22
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>23</b>
3.1 Beschreibung des untersuchten Patientenkollektivs .....	23
3.1.1 Studien- und Beobachtungszeitraum .....	23
3.1.2 Indikation und Transplantationsart .....	23
3.1.3 Demographische Merkmale: Geschlecht und Alter .....	25
3.1.4 Ischämiezeit und Alter des Organspenders .....	27
3.1.5 CMV-Status des Spenders und Empfängers .....	29
3.1.6 Primäre Transplantatdysfunktion (PGD) .....	30

3.1.7	Akute zelluläre Abstoßungen und lymphozytäre Bronchiolitis .....	30
3.1.8	Immunsuppressive Therapie .....	34
3.1.9	Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom .....	35
3.1.10	HLA-Antikörper .....	36
3.1.10.1	Präformierte Antikörper .....	36
3.1.10.2	HLA-Antikörper nach Transplantation .....	36
3.2	Risikofaktorenanalyse für die Entwicklung des BOS und BOS 3 .....	39
3.2.1	Demographische Variablen: Alter und Geschlecht .....	39
3.2.2	Transplantationsart und Grunderkrankung .....	40
3.2.3	Ischämiezeit und Alter des Organspenders .....	42
3.2.4	CMV-Status des Spenders, Empfängers und CMV-Mismatch .....	43
3.2.5	Primäre Transplantatdysfunktion .....	46
3.2.6	Akut zelluläre Abstoßung, A nach ISHLT .....	47
3.2.7	Lymphozytäre Bronchiolitis, B nach ISHLT .....	48
3.2.8	Immunsuppressive Erhaltungstherapie .....	49
3.2.9	HLA-Antikörper .....	51
3.2.9.1	Präformierte Antikörper .....	51
3.2.9.2	HLA-Antikörper nach Transplantation .....	52
3.2.9.3	<i>De novo</i> HLA-Antikörper .....	55
3.3	Multivariate Cox Regressionsanalyse .....	59
3.3.1	Multivariate Analyse für BOS .....	59
3.3.2	Multivariate Analyse für BOS 3 .....	59
3.4	Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper .....	60
3.4.1	HLA-Antikörper nach Transplantation .....	60
3.4.2	<i>De novo</i> HLA-Antikörper .....	69
3.4.3	<i>De novo</i> DSA .....	72
<b>4.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>75</b>
4.1	Risikofaktoren für das Bronchiolitis obliterans Syndrom .....	75
4.2	Charakterisierung der Patienten mit HLA-Antikörpern .....	81
4.3	Limitationen .....	83
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>85</b>
<b>6.</b>	<b>Verzeichnisse.....</b>	<b>87</b>
6.1	Abkürzungsverzeichnis .....	87
6.2	Literaturverzeichnis .....	90
<b>7.</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>101</b>

# **1. Einleitung**

## **1.1 Die Lungentransplantation im Kontext der chronischen Abstoßung**

### **1.1.1 Allgemeine Einführung**

Am 11. Juni 1963 führte J.D. Hardy die erste einseitige Lungentransplantation am Menschen durch.[1] Stetige Forschung hat die Lungentransplantation zu einer etablierten Therapieoption bei diversen Lungenerkrankungen im Endstadium weiterentwickelt.[2, 3] Zu diesen Erkrankungen zählen unter anderem Mukoviszidose, COPD und interstitielle Lungenerkrankungen.[4] Dabei können die Patienten in Abhängigkeit von der zugrunde liegenden Krankheit von einer Verbesserung der Lebensqualität und/oder verlängerten Lebenszeit profitieren.[2, 5-7] Als Therapieoption kommt die Transplantation dann zum Einsatz, wenn es trotz Ausschöpfen aller konservativen Therapiemöglichkeiten zu einer eindeutigen Einschränkung der Lebenszeit oder Lebensqualität kommen würde, verglichen mit der Prognose nach Durchführung einer Transplantation.[2, 8-10] Die kontinuierlich steigende Anzahl der jährlich von der Internationalen Gesellschaft für Herz- und Lungentransplantation (ISHLT) registrierten Lungentransplantationen spiegelt die Relevanz und das therapeutische Potential wider. Im Jahr 1985 wurden 5 Transplantationen und in den Jahren 1995 und 2011 wurden schon 1317 bzw. 3640 Transplantationen registriert.[4] Dabei hat sich das mediane Überleben fortwährend verbessert. Bei Patienten, welche zwischen 1996 und 2003 eine Lungentransplantation erhalten haben, lag das mediane Überleben bei 5,3 Jahren. Bei einer Transplantation zwischen 2004 und Juni 2011 bei 6,1 Jahren.[4] Eine Hauptursache für die schlechten Langzeitergebnisse nach Lungentransplantation stellt insbesondere das chronische Transplantatversagen dar.

### **1.1.2 Chronisches Lungentransplantat Versagen (CLAD)**

Bei dem Begriff „Chronic lung allograft dysfunction“ / „chronisches Lungentransplantat Versagen“ (CLAD) handelt es sich um einen relativ neu entstandenen Begriff. Dieser fand 2010 Einzug in die wissenschaftliche Literatur. [11, 12] Seine zunehmende Verwendung spiegelt wider, dass im Rahmen neuer Forschungsergebnisse festgestellt wurde, dass die Bronchiolitis obliterans (BO) bzw. das Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS) zwar die häufigste, aber nicht die einzige Entität ist, welche für eine chronische Minderung der Transplantatfunktion

ursächlich sein kann. Zum Zeitpunkt der Funktionsminderung lässt sich oftmals jedoch keine eindeutige Aussage über die entsprechende Genese der Funktionsminderung treffen und erfordert dadurch einen übergeordneten umfassenden Begriff.

Bisher fand keine Verwendung einer einheitlichen Definition statt. Verleden et al. schlagen CLAD als Sammelbegriff für einen persistierenden, d.h. mindestens 3 Wochen anhaltenden, Abfall der Einsekundenkapazität FEV1 (forciertes expiratorisches Volumen in einer Sekunde), von über 10 % bezogen auf den Ausgangswert vor (mit oder ohne Abfall der FVC (forcierte expiratorische Vitalkapazität)). Der Ausgangswert definiert sich als der Durchschnitt der zwei besten Werte der FEV1 nach Transplantation, welche in einem Abstand von mindestens 3 Wochen beobachtet wurden.[12] Die Ursache ist dabei oftmals ungeklärt und nach Verleedens Forschungsgruppe kann es sich dabei entweder um einen reversiblen oder auch irreversiblen Prozess handeln.[12] Das BOS stellt die wichtigste und häufigste Ursache dar. Das restriktive Allograft Syndrom (RAS) und das ARAD (=Azithromycin responsive allograft dysfunction) sind weitere wichtige Unterformen.

#### **1.1.2.1 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom**

Die Bronchiolitis obliterans wird klassischerweise als chronische Transplantatabstoßung angesehen.[13] Wobei nicht-alloimmune Mechanismen in deren Genese ebenfalls eine Rolle spielen.[14] Innerhalb von 5 Jahren entwickelt ca. die Hälfte, innerhalb von 10 Jahren entwickeln ca. drei Viertel aller lungentransplantierten Patienten ein BOS.[4] Dies hat bedeutende Auswirkungen. Die gesundheitsbezogene Lebensqualität sinkt.[15-17] Die Kosten der Behandlung steigen.[18] Und vor allem sinken dadurch die Überlebenschancen, da das BOS die führende Todesursache jenseits des ersten Jahres nach Transplantation darstellt.[4, 19-21] Das mediane Überleben nach Auftreten des BOS liegt lediglich bei ca. 3 Jahren.[22-24]

Aufgrund dieser hohen klinischen Relevanz und der bis heute nicht eindeutig geklärten Genese werden der BO und dem BOS eine starke Beachtung innerhalb der Forschungsgemeinschaft geschenkt. Das histologische Bild der BO ist gekennzeichnet durch fibrotisch entzündliche Prozesse der kleinen, nicht knorpelhaltigen Atemwege mit partieller oder kompletter luminaler Okklusion.[25, 26] Da ein Nachweis mittels transbronchialer Biopsie aufgrund der uneinheitlichen Verteilung der Veränderungen innerhalb der Lunge eine

mangelnde Sensitivität für die Diagnose besitzt, entwickelte man das „Konstrukt“ des BOS.[26] Dieses definiert sich durch klinische Parameter, insbesondere Lungenfunktionsparameter und ermöglicht dadurch eine einfachere Diagnose und ein besseres Monitoring. Die genaue Definition und Einteilung findet sich in Tabelle 1 im Abschnitt 2.3.1.

Obwohl die genaue Genese bis heute ungeklärt ist, sind diverse Risikofaktoren identifiziert worden. Akute Abstoßungen sind als Risikofaktor für die Entwicklung eines BOS anerkannt.[19, 27, 28] Es werden unter anderem schwere und multiple zelluläre Abstoßungen sowie „late-onset“ Abstoßungen mit einem erhöhten Risiko für ein BOS in Verbindung gebracht.[28-32] Sogar minimale zelluläre Abstoßungen scheinen ein Risikofaktor zu sein.[33, 34] Darüber hinaus stellt die lymphozytäre Bronchiolitis einen weiteren Risikofaktor dar.[27, 35, 36] Wobei auch der Schweregrad der lymphozytären Bronchiolitis mit dem Risiko, ein BOS zu entwickeln, assoziiert ist.[37] Des Weiteren hat sich in Studien eine Assoziation zwischen der primären Transplantatdysfunktion (PGD) und der Entwicklung eines BOS gezeigt.[38, 39] Virale Infektionen des unteren Respirationstraktes sind ebenfalls mit dem BOS assoziiert.[40-42] Für das humane *Herpesvirus-6* konnte dies auch festgestellt werden.[43] *Cytomegalivirus* (CMV)-Infektionen sind als potenzieller Risikofaktor seit längerem bekannt.[44-46] Besiedelungen des Respirationstraktes mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Aspergillus* scheinen ebenso Risikofaktoren für das BOS zu sein.[47-49] Vos et al. haben darüber hinaus in einer Studie eine Assoziation zwischen der Besiedlung durch *Pseudomonas aeruginosa* und der Aspiration von Gallensäuren gefunden.[50] Dies ist insofern interessant, da gastroösophagealer Reflux ebenso als möglicher Risikofaktor für das Auftreten des BOS gilt.[51, 52] In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass die operative Therapie mittels Fundoplikatio zu einer Verbesserung des BOS-Grads bei einem Teil der Patienten geführt hat.[53] Eine vermehrte Freiheit von BOS konnte ebenfalls erreicht werden.[54] Darüber hinaus besteht eine Diskussion darüber welche Bedeutung Antikörper, die gegen HLA-Merkmale gerichtet sind (im folgenden HLA-Antikörper genannt), in der Genese der Bronchiolitis obliterans bzw. des BOS besitzen. Eine ausführlichere Erörterung zu dieser Frage findet sich in dem Abschnitt 1.3.1.3 der Arbeit und ist der Kernaspekt der anschließenden eigenen Untersuchungen.

### **1.1.2.2 Restriktives Allograft Syndrom**

Neben dem BOS gibt es eine weitere wichtige Unterform der CLAD deren Entität erst in der jüngeren Forschungsgeschichte definiert wurde. Der Begriff des restriktiven Allograft Syndroms (RAS) wurde durch Sato et al. eingeführt.[55] Die Forschungsgruppe versteht darunter eine Kombination aus einer persistierenden Abnahme der FEV1 und einer restriktiven Ventilationsstörung. Die restriktive Störung definierten Sato et al. durch eine Abnahme der TLC von >10 % gegenüber dem Ausgangswert.[55] Die Abgrenzung gegenüber dem BOS ist insbesondere deshalb von Relevanz, da das RAS an eine noch schlechtere Prognose assoziiert scheint.[55, 56] Die Progression des RAS verläuft dabei vermutlich treppenstufenartig.[57] Radiologisch zeigt sich beim RAS Kennzeichen einer interstitiellen Lungenerkrankung.[55] Das histopathologische Korrelat des RAS scheint die pleuroparenchymatöse Fibroelastose zu sein.[58]

## **1.2 Antikörper-vermittelte Abstoßung (AMR)**

### **1.2.1 Einführung**

In den letzten 50 Jahren galt die allgemeine Auffassung, dass Zellen, insbesondere T-Zellen, die zentralen Regulatoren und Effektoren der Transplantatabstoßung seien.[59, 60] Doch im Rahmen neuer Erkenntnisse ist die Frage aufgekommen, wie bedeutend die Rolle von Antikörpern bei Transplantatabstoßungen ist. Die Entwicklung sensitiverer Antikörperdetektionstechniken sowie der C4d-Färbung haben dem Forschungsfeld enormen Aufwind gegeben. Dadurch konnte sich das Konzept der Antikörper-vermittelten Abstoßungsreaktion bereits in verschiedenen Bereichen der Transplantationsmedizin etablieren. In erster Linie gilt dies auf dem Gebiet der Nierentransplantation. Auf dem Feld der Lungentransplantation ist die Evidenz nicht im gleichen Maße ausgeprägt.

Die klassischen im Hauptfokus stehenden Antikörper sind gegen das humane Leukozytenantigen-System (HLA-System) gerichtet. Und darunter insbesondere diejenigen HLA-Antikörper, welche nach Transplantation neu aufgetreten sind (*de novo* HLA-AK) und/oder gegen die HLA-Merkmale des Spenderorgans (Spender-spezifische HLA-Antikörper = DSA (engl. Donor Specific Antibodies) gerichtet sind. Aus diesem Grund wird im Folgenden zunächst eine Einführung in das HLA-System und in die Möglichkeiten, HLA-



Antikörper nachzuweisen, gegeben. Anschließend werden das Grundprinzip der C4d-Färbung und der Erkenntnisstand im Bereich der Nierentransplantation kurz beschrieben, um danach die Erkenntnisse im Bereich der Lungentransplantation ausführlicher darzustellen.

### **1.2.2 Das humane Leukozytenantigen-System**

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (engl. „*MHC*“, *major histocompatibility complex*) wird beim Menschen auch als HLA-System bezeichnet.[61] Man versteht darunter eine Gruppe gekoppelter genetischer Loci, die beim Menschen auf Chromosom 6 liegt. Die bekanntesten der dort kodierten Proteine sind die HLA-I-Moleküle und die HLA-II-Moleküle. Beide Molekülklassen spielen insbesondere eine Rolle im Rahmen der Antigenpräsentation. Während HLA-I-Moleküle auf der Oberfläche von fast allen Zellen im menschlichen Körper vorhanden sind, finden sich HLA-II-Moleküle nur auf wenigen Zellen. Dazu gehören dendritische Zellen, Makrophagen, B-Lymphozyten und auch Endothelzellen.[62]

Der HLA-Komplex zeigt eine Polygenie. Das heißt, dass jeder Mensch mehrere HLA-I- und HLA-II-Gene besitzt und damit verbunden auch unterschiedliche HLA-I- und HLA-II-Moleküle. Für die  $\alpha$ -Kette der MHC-I-Moleküle existieren beim Menschen drei Gene: HLA-A, -B und -C. HLA-DRA und -DRB, -DPA und -DPB sowie -DQA und -DQB kodieren jeweils für die  $\alpha$ -Kette beziehungsweise  $\beta$ -Kette der HLA-II-Moleküle. Dabei zeigen die meisten Gene eine ausgeprägte Polymorphie. Dies spiegelt sich darin wieder, dass manche der Gene über 400 verschiedene Allele besitzen. Die Expression des mütterlichen und väterlichen Allels erfolgt kodominant. Sowohl die Polygenie, wie auch die ausgeprägte Polymorphie sind der Grund für die individuelle Vielfalt der HLA-Moleküle jedes Menschen. Und damit neben dem ABO-System der Hauptgrund für die im Rahmen einer allogenen Organtransplantation auftretenden Gewebeunverträglichkeit.[62]

### **1.2.3 Methoden zur Detektion von HLA-Antikörpern**

Es bestehen diverse Möglichkeiten Antikörper gegen HLA-Merkmale zu identifizieren. Im Folgenden werden die Grundprinzipien ausgewählter Methoden kurz vorgestellt.

Das Grundprinzip des Lymphozytotoxizitäts-Assays basiert darauf, dass vitale Lymphozyten, durch die Inkubation mit zytotoxischen Antikörpern lysiert werden können. Wobei ausschließlich Lymphozyten lysiert werden, welche das dem Antikörper entsprechende spezifische HLA-Merkmal tragen. Aufgrund der Beteiligung des Komplementsystems wird in

diesem Zusammenhang auch von „*complement-dependent cytotoxicity*“ (CDC) gesprochen. Mikroskopisch lässt sich die Antigen-Antikörper Reaktion mittels Zugabe eines Vitalfarbstoffes verfolgen. Somit können Komplement-abhängige Immunglobuline vom IgG und IgM Typ detektiert werden. In der Praxis kommt ein sogenanntes Panel zum Einsatz, welches Zellen von ca. 50 bis 60 verschiedenen Personen besitzt, deren HLA-Merkmale bekannt sind und deren Gesamtheit möglichst die HLA-Merkmalverteilung der Bevölkerung repräsentiert. Die Panelreaktivität (% PRA) gibt den Anteil der positiven Reaktionen der verschiedenen Leukozytenpopulationen am gesamten Panelumfang wieder.[63] Mittels Durchflusszytometrie können HLA-Antikörper indirekt mittels Immunfluoreszenz nachgewiesen werden. Dazu werden Lymphozyten zu Beginn mit dem Testserum inkubiert und anschließend eine Antikörperbindung mittels fluorochrom-markierter Anti-Human-IgG- und -IgM Antikörper und einem Durchflusszytometer erfasst.[63] Das Prinzip des ELISA („Enzyme-linked immunosorbent assay“) beruht darauf, dass die gesuchten HLA-Antikörper an fixierte HLA-Moleküle auf einem Träger binden. Im Anschluss wird mittels Anti-Humanimmunglobulin-Enzymkonjugaten und deren Substratreaktion der Nachweis für die Antikörper erbracht.[63] Die Mikropartikeldurchflusszytometrie (z.B. Luminex®) beruht wie auch der ELISA auf dem direkten Nachweis der Antikörper. Im Kontrast zur Durchflusszytometrie werden anstelle von Zellen künstlich hergestellte Mikropartikel (engl. „*beads*“), bestückt mit HLA-Antigenen, verwendet. Durch unterschiedliche Farbkodierung der Mikropartikel in unterschiedlichen Intensitäten ist es möglich bis zu 100 Partikel zu differenzieren und gleichzeitig zu detektieren („multiplex“). Die Detektion der reagierten HLA-Antikörper wird durch Zugabe von fluorochrom-markierter Antikörper ermöglicht. [63, 64]

Terasaki und Mc Clelland beschrieben als erste den auf der Lymphozytotoxizität basierenden Assay.[65] Anschließend wurde er für Jahrzehnte der Standard zur Identifikation von HLA-Antikörpern. Mittlerweile hat die Verwendung von Festphasen-Assays (v.a. die Mikropartikeldurchflusszytometrie sowie der ELISA) in die klinischen Labors Einzug gehalten.[66-70] Der Vorteil dieser liegt insbesondere in einer höheren Sensitivität der Antikörperdetektion. So konnten HLA-Antikörper, welche nicht mittels CDC-Assay erkannt wurden, identifiziert werden.[70] Die Relevanz dieser Antikörper ist Gegenstand aktueller umfangreicher Forschungen im Bereich der Transplantationsmedizin. Wobei die Ergebnisse differenziert betrachtet werden müssen. Speziell bei der Luminex®-Technologie besteht

aktuell keine Standardisierung, weshalb Ergebnisse zwischen mehreren Gruppen teilweise schwer zu vergleichen sind.

#### **1.2.4 Bedeutung von C4d**

Bei C4d handelt es sich um ein inaktives Spaltprodukt aus der Komplement-Kaskade.[71] C4d besitzt eine bemerkenswerte Eigenschaft. Es ist in der Lage kovalente Bindungen mit Zellbestandteilen einzugehen. Ein Antikörper vermittelter Zellschaden hinterlässt auf diese Weise einen Art „Fußabdruck“.[71, 72] C4d lässt sich immunhistochemisch oder mittels Immunfluoreszenz in Biopsien nachweisen und in Folge dessen, die Beteiligung von Antikörpern. Somit wird es teilweise möglich ein relativ eindeutiges Korrelat der Antikörper vermittelten Abstoßung in der Biopsie zu finden.

Die Technik besitzt jedoch auch diverse Nachteile. Unter anderem ist die Beurteilung, ob eine Biopsie als C4d-positiv gilt abhängig vom Muster der Färbung und nicht immer leicht zu beurteilen.[71, 73, 74] Insbesondere gilt dies für fokal angefärbte Bereiche. Des Weiteren ist die Sensitivität gegenüber chronischen durch Antikörper-vermittelten Abstoßungen nur gering und eine C4d-Positivität kann auch auf Grund einer Reihe von anderen Mechanismen entstehen. Zum Beispiel können ABO-inkompatible Transplantate zu einer C4d-Positivität führen. Dies muss jedoch eher als Zeichen einer Akkommodation interpretiert werden, anstatt als Zeichen einer Abstoßung.[71]

#### **1.2.5 AMR im Kontext der Nierentransplantation**

Da die Forschungserkenntnisse bezüglich der Existenz Antikörper-vermittelter Abstoßungsreaktionen auf dem Gebiet der Nierentransplantation derzeit am umfangreichsten sind, soll an dieser Stelle exemplarisch herausgearbeitet werden, welche Formen der Antikörper-vermittelten Abstoßungsreaktion bereits anerkannt und definiert sind.

Anfang der neunziger Jahre wurde dem Konzept, dass Antikörper eine Transplantatabstoßung verursachen können insgesamt noch wenig Beachtung geschenkt. Es fand jedoch schon damals Einzug in die Banff-Kriterien in Form der hyperakuten Abstoßung.[75] In den Banff-Kriterien von 1997 für die Beurteilung von Nierentransplantatbiopsien und vor allem in deren Update 2009 zeigt sich ein anderes Bild.[76, 77] Diese definieren sowohl eine akute sowie chronische Antikörper-vermittelte Abstoßung. Die diagnostische Basis stellt dabei immer die Trias aus einem zirkulierenden Spender-spezifischen HLA-Antikörper (DSA), der C4d-

Positivität der Biopsie sowie der Präsenz von pathologischen Merkmalen im Allograft dar.[76] Für die akute Abstoßung sind Zeichen eines akuten Gewebeschadens: I) Akuten Tubulusnekrosen ähnliche minimale Inflammationen, II) Kapilläre und/oder glomeruläre Inflammation und/oder Thrombosen, III) arterielle-v3 Läsionen.[76] Für den chronischen Gewebeschaden werden folgende Merkmale herangezogen: glomeruläre Doppelkonturen und/oder peritubuläres Multilayering von kapillaren Basalmembranen und/oder interstitielle Fibrose/Tubulusatrophie und/oder fibröse Intimaverdickungen in Arterien.[76] Fehlt entweder der Nachweis eines zirkulierenden Spender-spezifischen Antikörpers oder der Nachweis einer C4d-Positivität trotz des morphologischen Gewebeschadens, kann die Biopsie als „verdächtig auf eine Antikörper-vermittelte Abstoßung“ bewertet werden.[76]

Die Banff Klassifikation spiegelt somit die Akzeptanz der Antikörper-vermittelten Abstoßung wieder. Darüber hinaus besteht jedoch die Auffassung, dass die Sensitivität der Klassifikation nicht ausreichend ist und sie nicht alle Fälle der Antikörper-vermittelten Abstoßungen erfasst.[74, 78] Insbesondere stehen dabei die C4d-Färbung und ihre mangelnde Sensitivität im Fokus der Diskussion. Die mangelnde Sensitivität der Färbung wird zum einen auf methodische Schwierigkeiten, zum anderen auf biologische Hürden (z.B. Existenz nicht-Komplement-bindender Antikörper) zurückgeführt.[78] Das Konzept der C4d-negativen-Antikörper-vermittelten Abstoßung wird mittlerweile größtenteils akzeptiert und fand Eingang in die Banff Klassifikation von 2013.[74, 78, 79]

### **1.3 AMR im Kontext der Lungentransplantation**

Im Bereich der Lungentransplantation ist die Akzeptanz der Antikörper-vermittelten Transplantatabstoßung nicht im gleichen Maße ausgeprägt. Dies ist auf diverse Faktoren zurückzuführen. Im Folgenden wird der Erkenntnisstand zur Bedeutung der Antikörper-vermittelten Abstoßungsreaktion im Rahmen sowohl der hyperakuten und akuten Transplantatabstoßung als auch der chronischen Transplantatabstoßung / Bronchiolitis obliterans Syndrom dargestellt und anschließend zusammengefasst.

#### **1.3.1.1 Hyperakute Abstoßung**

Im Rahmen der hyperakuten Abstoßung ist das Prinzip der Antikörper-vermittelten Abstoßung ein etabliertes Konzept im Bereich der Lungentransplantation. Die erste umfassende

Fallpräsentation ist von Frost et al. [80] Sie berichteten von einer 48-Jährigen, die nach einer einseitigen Lungentransplantation einen starken Blutdruckabfall sowie einen dramatischen Sauerstoffsättigungsabfall erlitt. Das Röntgenbild zeigte homogene Infiltrate nur im Bereich der transplantierten Lunge. Im Verlauf entwickelten sich bei der Patientin eine Thrombozytämie und eine Verbrauchskoagulopathie. Alle Therapieversuche scheiterten und die Patientin verstarb nach einer einseitigen Pneumektomie am dreizehnten postoperativen Tag. Vor der Transplantation konnte bei der Patientin ein hoher Sensibilisierungsgrad durch Panel-reaktive-Antikörper festgestellt werden. Ein durchgeführter lymphozytotoxischer Crossmatch stellte sich als positiv heraus und es konnte anschließend ein Spender-spezifischer-IgG-HLA-Antikörper gegen das B 8 Merkmal des Spenders identifiziert werden. Die Untersuchung des Transplantats zeigte einen diffusen alveolären Schaden, Infiltrate von neutrophilen Granulozyten, sowie einen epithelialen und endothelialen Schaden.[80]

Auch in weiteren Fallberichten konnten die Existenz der hyperakuten Abstoßungsreaktion in klinischer, serologischer und histologischer Hinsicht beschrieben werden.[73, 80-85] Unter anderem wurden folgende histologische Merkmale beobachtet: Hämorrhagien, Akkumulationen von Fibrin, hyaline Membranen, intravaskuläre Fibrin/Thrombozytenthromben, interstitielle und intraalveoläre Infiltrate von neutrophilen Granulozyten und fokal arterioläre fibrinoide Nekrosen.[73, 80-85]

Neben den klinischen und serologischen Charakteristika ergänzen die histopathologischen Befunde das Bild der hyperakuten Abstoßungsreaktion. Somit ergibt sich ein rundes, abgezeichnetes Bild, welches vor allem durch den dramatischen Verlauf, die zeitliche Assoziation zur Transplantation und den Nachweis der HLA-Antikörper besticht.

Insbesondere das Fehlen solcher klarer Kennzeichen lässt die Erforschung und Diagnose der Antikörper-vermittelten Transplantatabstoßung, abgesehen von der hyperakuten Abstoßung, zur Herausforderung auf dem Gebiet der Lungentransplantation werden.

### **1.3.1.2 Akute humorale Abstoßung**

Im Rahmen der Nieren- und Herztransplantation ist die akute humorale Abstoßung bereits weitestgehend anerkannt.[26, 59, 74] Im Bereich der Lungentransplantation ist das Konzept noch nicht in der gleichen Tiefe verankert. Die stetig wachsende Evidenz führte jedoch auch auf diesem Gebiet zu vermehrter Akzeptanz.[73]

Im Folgenden sind ausgewählte Aspekte aufgeführt, über die beim Pathology Council 2012 der ISHLT in Bezug auf die Diagnose der akuten Antikörper-vermittelten Abstoßung Einigkeit herrschte.[73] Demnach kann die Diagnose der akuten Antikörper-vermittelten Abstoßung durch einen sogenannten „Triple Test“ gestellt werden. Dieser setzt sich aus einer Funktionsverschlechterung des Transplantats, dem Nachweis eines zirkulierenden Spender-spezifischen Antikörpers und pathologischen Merkmalen in der Biopsie zusammen. Die histopathologischen Merkmale sind dabei unspezifisch und finden sich auch bei einer Reihe von anderen Ursachen, wie beispielsweise bei Infektionen und zellulären Abstoßungen. Des Weiteren muss eine kapilläre C4d-Immunoreaktivität im klinischen Kontext interpretiert werden, da sie sowohl in der Präsenz von DSAs, wie auch seltener in der Abwesenheit von DSAs dokumentiert wurde. Man spricht von einer C4d-Positivität bei einer diffusen/multifokalen Immunoreaktivität von über 50 % der interstitiellen Kapillaren. Sind lediglich fokal Areale mit C4d immunoreaktiv, wird dies als negativ bewertet.[73] Die Banff Studie konnte bei Patienten mit DSAs im Vergleich zu Patienten ohne HLA-Antikörper statistisch signifikante Assoziationen zu verschiedenen histologischen Auffälligkeiten (Zeichen des akuten Lungenschadens mit oder ohne diffusem alveolarem Schaden, kapilläre neutrophile Entzündung, sowie Entzündung des Endothels) finden. Für die C4d-Färbung zeigte sich lediglich ein statistischer Trend.[86]

### 1.3.1.3 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom

#### Experimentelle Untersuchungen

Auf experimenteller Ebene lassen sich sowohl *in vitro*, wie auch in verschiedenen Tiermodellen Anhaltspunkte für eine pathophysiologische Verbindung zwischen der Bronchiolitis obliterans und HLA-Antikörpern finden.

Bezüglich MHC-I-Antikörpern konnten Jaramillo et al. bei einem *in vitro* Experiment zeigen, dass die Antikörper in der Lage sind, Epithelzellen der Atemwege zur Bildung von Wachstumsfaktoren, zur Proliferation und zur vermehrten Apoptose anzuregen.[87] Analog geht die Bronchiolitis obliterans mit ähnlichen Mechanismen einher. Darüber hinaus konnte die Gruppe herausarbeiten, dass in dem Modell des heterotopen Trachea-Transplantats in der Maus eine obstruktive Atemwegserkrankung (OAD) ohne Beteiligung der zellulären Immunität verursacht werden kann.[88]. Den Mäusen wurde ein HLA-I-Antikörper in regelmäßigen Abständen verabreicht und nach 90 Tagen zeigte sich histopathologisch eine komplette Obliteration des Lumens mit moderater zellulärer Infiltration. Weitere Evidenz für einen pathophysiologischen Zusammenhang erbrachten Fukami et al. [89] Nach intrabronchialer Gabe von MHC-I-Antikörpern in die Lungen von Mäusen, entwickelten diese der Bronchiolitis obliterans sehr ähnliche Merkmale. Darüber hinaus induzierten die MHC-I-Antikörper zusätzlich die Neubildung von Autoantikörpern gegen K- $\alpha$ 1 Tubulin und Kollagen V. Masashi Takenaka und Kollegen konnten in einem Mausmodell herausarbeiten, dass keine Komplementaktivierung durch die Antikörper nötig ist, um eine durch MHC-Antikörper verursachte OAD auszulösen.[90]

Neben den vorgestellten Arbeiten zur Rolle von MHC-I-Antikörpern gibt es auch experimentelle Erkenntnisse zur Bedeutung von MHC-II-Antikörpern. Masahasi Takenaka und seine Kollegen wiesen nach, dass die intrabronchiale Applikation eines MHC-II-Antikörpers in die Lunge von C57BL/6 Mäusen zur Entwicklung einer OAD führt.[91] Die OAD ging einher mit einer verstärkten zellulären und humoralen Reaktion gegen Autoantigene (Gegen K- $\alpha$ 1Tubulin und Kollagen V) und die Makrophagen änderten ihren Phänotyp.[91]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die experimentellen Studien Konzepte für einen Zusammenhang zwischen MHC/HLA-Antikörpern und der Bronchiolitis obliterans/dem

Bronchiolitis obliterans Syndrom anbieten. Insbesondere wurden mehrere Experimente zur Rolle von MHC/HLA-I-Antikörpern durchgeführt. Die Evidenz im Bereich der MHC/HLA-II-Antikörper ist nicht im gleichen Maße ausgeprägt. Darüber hinaus müssen die Ergebnisse vor dem Hintergrund interpretiert werden, dass es sich dabei um *in vitro* sowie Tier-Experimente handelt, welche natürlich nicht automatisch auf den Menschen übertragen werden können.

### **Klinischer Zusammenhang**

Es existiert kein etabliertes Klassifikationsschema, in welchem das BOS bzw. die Bronchiolitis obliterans, verursacht durch HLA-Antikörper, anerkannt wird. Jedoch haben mehrere Forschungsgruppen mittlerweile Studien über den Zusammenhang zwischen Antikörpern und dem Bronchiolitis obliterans Syndrom durchgeführt. Verschiedene Studien konnten eine Assoziation zwischen dem Bronchiolitis obliterans Syndrom und HLA-Antikörpern finden. Dabei sind die Studien sehr heterogen und von unterschiedlicher Qualität. Insbesondere die bereits angesprochene Bedeutung der Antikörperdetektionstechnik und die damit einhergehende Sensitivität der Antikörperdetektion haben eine große Bedeutung. Ebenso existiert eine Reihe von unterschiedlichen HLA-Antikörpern bzw. Subpopulationen (z.B. HLA-I-Antikörper, HLA-II-Antikörper, *de novo* HLA-Antikörper, Spender-spezifische HLA-Antikörper (DSA)), welche in den Studien oftmals nicht differenziert wurden. Ebenso besteht ein Einfluss der Immunsuppression auf die Bildung von HLA-Antikörpern. Viele Sachverhalte sind auf diesem Gebiet noch ungeklärt und so lässt sich die Bedeutung und Relevanz von HLA-Antikörpern bislang schwer einordnen.

### **1.4 Zusammenfassung und Ziel der Studie**

Die Lungentransplantation hat sich als potenzielle Therapiemöglichkeit bei diversen schweren Lungenerkrankungen im Endstadium etabliert. Trotz bedeutender Fortschritte auf diesem Gebiet bleiben die Langzeitergebnisse hinter den Erwartungen zurück. Dies ist insbesondere auf das häufige Auftreten der Bronchiolitis obliterans, die als chronische Transplantatabstoßung interpretiert wird, zurückzuführen. Unterschiedlichste Prozesse scheinen eine Rolle in deren Ätiologie zu spielen. Dazu zählen auch HLA-Antikörper. Das Konzept, dass Antikörper pathophysiologisch zu einer Transplantatabstoßung beitragen können, entstammt der Theorie der humoralen Abstoßung. Diese Theorie hat sich auf dem



Gebiet der Nierentransplantation bereits etabliert. In Bezug auf das Bronchiolitis obliterans Syndrom ist der Zusammenhang unklarer. Es bestehen jedoch sowohl experimentelle, wie auch klinische Hinweise auf eine Verbindung zwischen dem BOS und HLA-Antikörpern. Die meisten klinischen Studien zeigen eine Assoziation auf. Jedoch kamen oftmals Antikörperdetektionsmethoden mit geringer Sensitivität zum Einsatz, es wurden nur kleine Studienpopulationen untersucht oder es erfolgte keine genauere Differenzierung der HLA-Antikörper. Unter der immunsuppressiven Erhaltungstherapie aus Mycophenolatmofetil (MMF), Tacrolimus und einem Steroid konnte bis zum Beginn der eigenen Untersuchungen keine statistisch signifikante Assoziation gefunden werden.[92, 93]

Das Ziel der Dissertation ist es, den Zusammenhang zwischen HLA-Antikörpern, insbesondere von *de novo* DSA und dem Bronchiolitis obliterans Syndroms unter Einbeziehung weiterer Risikofaktoren genauer zu beleuchten. Dabei sollen in erster Linie Antworten auf folgende Fragen gefunden werden.

Sind HLA-Antikörper und insbesondere *de novo* DSA und das Bronchiolitis obliterans Syndrom in einer Patientenpopulation miteinander assoziiert, welche hauptsächlich eine immunsuppressive Erhaltungstherapie aus MMF, Tacrolimus und Prednisolon erhält?

Welche weiteren Risikofaktoren können für das BOS in der Population identifiziert werden?

Stellen *de novo* DSA einen unabhängigen Risikofaktor für das BOS dar?

Unterscheiden sich Patienten mit und ohne HLA-Antikörper / *de novo* DSA voneinander?

## **2. Methodik und Statistik**

### **2.1 Allgemeines Studiendesign**

Im ersten Schritt wurde eine geeignete Patientenpopulation ausgewählt, um die aufgezeigten Ziele der Studie umzusetzen. Ab dem Jahr 2006 wurden am Klinikum der LMU München im Rahmen von regelmäßigen Nachsorgeterminen, sowie bei klinisch auffälligen Ereignissen (z.B. V.a. akute Abstoßungsreaktion, usw.) HLA-Antikörpermessungen durchgeführt. Deshalb wurden alle Patienten in die Studie eingeschlossen, welche zwischen Januar 2006 und Mai 2011 transplantiert worden waren und bei denen HLA-Antikörpermessungen durchgeführt wurden. Als Endpunkt wurde der 31.7.2012 festgelegt. Die Risikofaktoranalyse für das Bronchiolitis obliterans Syndrom erfolgte nur bei Patienten mit einer Beobachtungszeit von mindestens einem Jahr. Grund hierfür ist die seltene Inzidenz von BOS in einem Zeitraum von unter einem Jahr nach Transplantation. Als potenzielle Risikofaktoren wurde das Auftreten und die Anzahl von akuten zellulären Abstoßungsreaktionen, das Auftreten und die Anzahl der lymphozytären Bronchiolitis, die primäre Transplantatdysfunktion (PGD), der CMV-Status des Spenders und des Empfängers (und die daraus resultierenden CMV-Konstellationen), die Ischämiezeit und der Nachweis von HLA-Antikörpern erfasst. Darüber hinaus wurden allgemeine Variablen wie das Alter bei Transplantation, das Alter des Organspenders, das Geschlecht, die Transplantationsart und die Transplantationsindikation, der Zeitpunkt des Versterbens, sowie die immunsuppressive Erhaltungstherapie erfasst. Auch um eventuelle Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper aufdecken zu können.

### **2.2 Datenerfassung**

Die Daten wurden systematisch retrospektiv erfasst und in einer Excel-Tabelle zusammengefasst. Die Quellen der einzelnen Daten sind explizit in den jeweiligen folgenden Abschnitten aufgeführt. Aus dieser Excel-Tabelle konnten daraufhin für die Auswertung mittels SPSS die entsprechenden Daten entnommen werden. Die Klassifikation des Bronchiolitis obliterans Syndroms wurde in Zusammenarbeit mit Privat-Dozent Dr. med. univ. Nikolaus Kneidinger erstellt. Es wurde möglich, einen fast vollständigen Datensatz zu erhalten, welcher insbesondere bei der Auswertung im Rahmen der multivariaten Cox-

Regression von Vorteil ist. Die Daten über das Vorhandensein von HLA-Antikörpern vor und nach Transplantation stellte freundlicherweise Dr. med. Teresa Kauke zur Verfügung. Somit wurde es möglich die Bedeutung von HLA-Antikörpern im Rahmen der Lungentransplantation genauer zu untersuchen.

## 2.3 Definitionen und Quellen

### 2.3.1 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom

Um die Diagnose der Bronchiolitis obliterans stellen zu können, benötigt es einen histopathologischen Nachweis.[26, 94] Im Allgemeinen wird sie als Form der chronischen Transplantatabstoßung gesehen. Die Sensitivität des Nachweises mittels transbronchialer Biopsie ist jedoch gering. Zum Monitoring und der Diagnosestellung einer chronischen Atemwegsabstoßung eignet sich deshalb besser das Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS), da dieses durch Lungenfunktionsparameter definiert ist.[26, 95] 1993 wurde der Begriff eingeführt um ein einfaches, aber dennoch spezifisches und sensitives Klassifikationssystem für Erkrankungen der Atemwege nach Lungentransplantation zu etablieren, welches unabhängig von der Histopathologie ist.[13, 95] In der folgenden Tabelle ist die aktuell verwendete Klassifikation zu sehen.

**Tabelle 1:** Aktuell verwendete BOS-Klassifikation nach Estenne und Kollegen.[13]

Aktuell verwendete BOS-Klassifikation nach Estenne und Kollegen [13]	
BOS 0	FEV <sub>1</sub> > 90 % des Ausgangswertes und FEF <sub>25-75</sub> > 75% des Ausgangswertes
BOS 0-p	FEV <sub>1</sub> 81 % bis 90 % des Ausgangswertes und/oder FEF <sub>25-75</sub> ≤ 75% des Ausgangswertes
BOS 1	FEV <sub>1</sub> 66 % bis 80% des Ausgangswertes
BOS 2	FEV <sub>1</sub> 51 % bis 65% des Ausgangswertes
BOS 3	FEV <sub>1</sub> 50 % oder weniger als der Ausgangswert
Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom; FEV <sub>1</sub> : Forciert expiratorisches Volumen in einer Sekunde; Ausgangswert-FEV <sub>1</sub> : Mittelwert der beiden FEV <sub>1</sub> -Höchstwerte nach Transplantation, die ohne vorherige Inhalation eines Bronchodilatators in einem Abstand von mindestens 3 Wochen gemessen wurden; FEF <sub>25-75</sub> : maximaler mittlerer expiratorischer Fluss; Ausgangswert FEF <sub>25-75</sub> : Mittelwert der beiden FEF <sub>25-75</sub> Höchstwerte nach Transplantation, die ohne vorherige Inhalation eines Bronchodilatators in einem Abstand von mindestens 3 Wochen gemessen wurden.	

Die Ausgangswert-FEV<sub>1</sub> definiert sich als der Mittelwert der zwei besten postoperativen FEV<sub>1</sub>-Werte, die mindestens einen zeitlichen Abstand von 3 Wochen besitzen und bei denen zum Zeitpunkt der Messung kein Bronchodilatator vom Patienten inhaliert wurde.[13] Das Stadium potenziell-BOS / BOS 0-p wurde etabliert um die behandelnden Ärzte auf die Dringlichkeit eines genauen und engmaschigen Monitorings hinzuweisen. Im Stadium BOS 0-p liegt jedoch kein BOS vor.

Um eine genaue Klassifikation und Grad-Einteilung des BOS anhand der beschriebenen Kriterien zu ermöglichen wurden alle im postoperativen Verlauf dokumentierten Lungenfunktionsuntersuchungen zur Auswertung herangezogen. Dadurch konnte ein genauer Ausgangswert (=Best-FEV<sub>1</sub>-Wert) festgelegt werden. Für die Patienten wurde zum Zeitpunkt jeder Lungenfunktionsuntersuchung eine prozentuale Berechnung des aktuellen Werts gegenüber dem Ausgangswert durchgeführt. Somit konnte der Zeitpunkt des Auftretens des BOS genau erfasst werden. Der aktuellste Wert diente zur endgültigen Einteilung in die Gruppen BOS vorhanden (BOS+) oder BOS nicht vorhanden (BOS-). Genauso wie für die Grad-Einteilung des BOS. Um nicht andere Ursachen für einen Verlust der FEV<sub>1</sub> unter der Entität des BOS zu subsumieren, wurden weitere Bedingungen analog zu den Definitionskriterien geprüft und führten gegebenenfalls zum Ausschluss.[13]

- Irreversibilität des Prozesses
- Ausschluss anderer potenzieller Ursachen wie beispielsweise einer Bronchusstenose, Infektion oder akuten zellulären Abstoßung.

Die Präsenz eines Bronchiolitis obliterans Syndroms wurde erst ab dem Stadium BOS 1 definiert. Patienten mit dem Stadium BOS 0-p wurden als BOS negativ betrachtet (BOS-).

### **2.3.2 Akute zelluläre Abstoßungsreaktion**

Eine akute zelluläre Abstoßungsreaktion lässt sich oftmals nicht alleine anhand des klinischen Befundes mit Sicherheit diagnostizieren und von einer Infektion abgrenzen.[96] Aus diesem Grund wurden für die Studie nur akute zelluläre Abstoßungsreaktionen als solche definiert, wenn eine Biopsie einen gesicherten Nachweis erbrachte. Um möglichst alle akuten Abstoßungsreaktionen erfassen zu können wurden sowohl die Arztbriefe, die pathologischen Berichte, wie auch die Einträge im elektronischen Verwaltungssystem durchgesehen. Die Untersuchung der transbronchialen Biopsien wurde jeweils durch das Pathologische Institut

der Ludwig-Maximilians-Universität vorgenommen. Die Bewertung basierte auf den histologischen Kriterien der Lung Rejection Study Group. Diese Kriterien wurden ursprünglich 1990 publiziert und haben seither zwei Mal eine Überarbeitung erfahren.[25, 26, 94] Dies ist insofern von Relevanz, da sich die Klassifikation der Abstoßung vom Typ B geändert hat. Aus diesem Grund wurden alle nach der 1996 publizierten Version klassifizierten B Abstoßungen, B 1, B 2, B 3, B 4 zu den neuen Einteilungen B 1 R und B 2 R nach der 2006 publizierten Version umklassifiziert. Das bedeutet B1 und B2 wurde zu B1R und B3 und B4 zu B2R.[26]

Die Einteilung orientiert sich an den betroffenen anatomischen Strukturen, Ausprägungen der Veränderungen und beteiligten Zellen.

**Tabelle 2:** Klassifikation der Lungenabstoßung nach Stewart und Kollegen

Klassifikation der Lungenabstoßung nach Stewart und Kollegen [26]	
A: Akute Abstoßung: Gekennzeichnet durch interstitielle und perivaskuläre mononukleäre Infiltrate	
Grad 0	Nicht vorhanden
Grad 1	Minimal
Grad 2	Mild
Grad 3	Moderat
Grad 4	Schwer
B: Lymphozytäre Bronchiolitis: Charakterisiert durch eine Entzündungsreaktion in den Atemwegen	
Grad 0	Nicht vorhanden
Grad 1 R	Leicht
Grad 2 R	Schwer
Grad X	Nicht klassifizierbar

### 2.3.3 Ischämiezeit

Die verwendete Definition der Ischämiezeit orientiert sich an der Publikation von Thabut et al. [97] Demnach ist sie durch den Zeitraum zwischen dem Anlegen der Aortenklemme beim Spender bis zur Reperfusion der Lunge beim Empfänger beschrieben. In Bezug auf eine bilaterale Lungentransplantation wurde die Ischämiezeit als die maximale Dauer, d.h. bis zur Reperfusion des zweiten transplantierten Lungenflügels, definiert.[97] Die Informationen wurden aus Eurotransplant Protokollen und Operations-Berichten entnommen.

### 2.3.4 CMV-Status und CMV-Mismatch

Der CMV-Status zum Zeitpunkt der Transplantation wurde sowohl vom Organspender wie auch vom Organempfänger erfasst. Die Informationen über den CMV-Status der Spender stammen aus Eurotransplant-Protokollen. Der CMV-Status des Empfängers wurde jeweils durch den Nachweis von CMV-spezifischen IgG-Antikörpern aus dem Serum der Patienten bestimmt. Auf der Basis des CMV-Status des Spenders und Empfängers lassen sich vier Konstellationen unterscheiden.

- Gruppe I: Empfänger negativ und Spender negativ; E-S-
- Gruppe II: Empfänger positiv und Spender negativ; E+S-
- Gruppe III: Empfänger positiv und Spender positiv; E+S+
- Gruppe IV: Empfänger negativ und Spender positiv; E-S+

Zur Auswertung wurden die Parameter CMV-Status des Spenders, CMV-Status des Empfängers, CMV-Konstellation sowie CMV-Hochrisikogruppe (E-S+) herangezogen.

### 2.3.5 Primäre Transplantatdysfunktion (PGD)

Die ISHLT schlägt zur exakten Einstufung der primären Transplantatdysfunktion sowohl eine Röntgenaufnahme des Thorax, wie auch den Quotienten aus arteriellem Sauerstoffpartialdruck und inspiratorischer Sauerstoffkonzentration vor. Die Bewertung sollte bei Ankunft des Patienten auf der Intensivstation und jeweils 24, 48 und 72 Stunden danach vorgenommen werden. Es werden folgende Grade definiert:[98]

- Grad 0:  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 > 300$  und ein unauffälliges Röntgenbild
- Grad 1:  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 > 300$  Röntgenbild zeigt diffuse Infiltrate
- Grad 2:  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  200-300
- Grad 3:  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$

Eine Gradeinteilung sowie Einteilung der primären Transplantatdysfunktion nach zeitlichem Auftreten erfolgten für die Studie nicht. Zur Beurteilung ob eine PGD bei den Patienten vorlag, wurden jedoch sowohl das Röntgenbild, wie auch der Horovitz-Quotient im postoperativem Verlauf herangezogen.

### **2.3.6 Immunsuppressive Erhaltungstherapie**

Am Klinikum Großhadern stellt die primäre immunsuppressive Standardtherapie nach Lungentransplantation die Kombination aus Mycophenolatmofetil (MMF), Tacrolimus und Prednisolon dar.[99] Dieses Schema wird jedoch nicht starr angewendet, sondern wird an die individuellen Gegebenheiten eines jeden Patienten angepasst. Insbesondere im Verlauf auftretende Nebenwirkungen und Infektionen können eine Umstellung der Medikation notwendig machen. Zur exakten Erfassung der immunsuppressiven Medikation wurden alle Arztbriefe der Patienten durchgesehen und die jeweilige Medikation vermerkt. Auf Basis dieser Daten wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt.

- I. Patienten die durchgängig die Standardkombination erhalten haben.
- II. Patienten die langfristig die Standardkombination erhalten haben, bei denen jedoch zeitweise (>3 Monate) der Zellzyklusinhibitor MMF abgesetzt war.
- III. Patienten die längerfristig eine andere immunsuppressive Therapie als die Standardmedikation erhalten haben.

Die genauere Beleuchtung der Immunsuppression und die Einteilung der Patienten in diese Gruppen wurden durchgeführt, da ein Zusammenhang zwischen immunsuppressiver Erhaltungstherapie und dem Auftreten von HLA-Antikörpern bekannt ist.[92, 93, 100, 101]

### **2.3.7 Detektion der HLA-Antikörper**

Die Informationen über HLA-Antikörper stammen aus prospektiv gewonnen Daten. Insbesondere seit 2006 wurde ein möglichst umfassendes Antikörperscreening bei allen ab diesem Zeitpunkt transplantierten Patienten durchgeführt. Im Rahmen des Nachsorgeprogramms wurden Antikörpermessungen in möglichst regelmäßigen Abständen bei Routinekontrollterminen sowie bei klinischer Verschlechterung durchgeführt. Die Detektion von HLA-I- und -II-Antikörpern wurde mittels Luminex®-Assay (Lifecodes Life Screen Deluxe, Immucor Inc., Norcross, GA, USA) durchgeführt. Single Antigen Beads (LabScreen, One lambda, USA) wurden verwendet um die Spender-Spezifität zu prüfen. Ab einer mittleren Fluoreszenzintensität von 3000 wurde bei entsprechender Spezifität ein Spender-spezifischer-HLA-Antikörper angenommen (DSA). *De novo* (lat. neu) wurde definiert als positiver Antikörpernachweis nach Transplantation bei vorausgegangener negativer Antikörpermessung. Die HLA-Typisierung für HLA-A,-B,-C,-DRB1 und -DQB1

für die Spender und Patienten wurde sowohl mittels SSP (Olerup SSP AB, Sweden) sowie mittels SSO (LabType SSO (One lambda, USA) mittels Luminex®-Plattform durchgeführt.

## **2.4 Statistik**

Zur statistischen Auswertung wurde die Computersoftware SPSS, Version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) benutzt.

Bei der Analyse kamen verschiedene statistische Tests und Verfahren zum Einsatz. Der Chi-Quadrat-Test und der exakte Test nach Fisher (falls die zu erwartende Anzahl  $< 5$  in einem Quadrat war) wurden zum Vergleich dichotomer, nominaler und kategorialer Variablen eingesetzt. Der Mann-Whitney-U Test diente zum Vergleich von kontinuierlichen Variablen ohne Normalverteilung. Bei Normalverteilung wurde der t-Test angewendet. Die Überprüfung auf Normalverteilung fand durch den Kolmogorov-Smirnov-Test statt. Darüber hinaus fand die Kaplan-Meier Methode für die Analysen bezüglich der Freiheit von BOS Anwendung. Die Gruppen wurden mittels des Log-rank-Tests verglichen. Für die multivariaten Analysen wurden COX-Regressionsanalysen durchgeführt.

Bei der Interpretation der Ergebnisse wird ein Ergebnis als statistisch signifikant bewertet, wenn der Fehler 1. Art, der  $\alpha$ -Fehler, kleiner als 5 % ist. „D.h.  $p < 0,05$ “

Soweit nicht anders gekennzeichnet, sind die angegebenen Daten in Tabellen und Abbildungen als absolute Werte oder Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. Nach Möglichkeit wurden auch Konfidenzintervalle (CI) angegeben. Diese sind so angegeben, dass der tatsächliche Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % innerhalb des Intervalls liegt.



### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Beschreibung des untersuchten Patientenkollektivs

##### 3.1.1 Studien- und Beobachtungszeitraum

Der Beobachtungszeitraum der 120 Patienten lag bei durchschnittlich  $1204 \pm 604$  Tagen ( $3,3 \pm 1,7$  Jahren). Vor dem Studienende verstarben 15 Patienten und drei Patienten erhielten eine Lungenretransplantation.

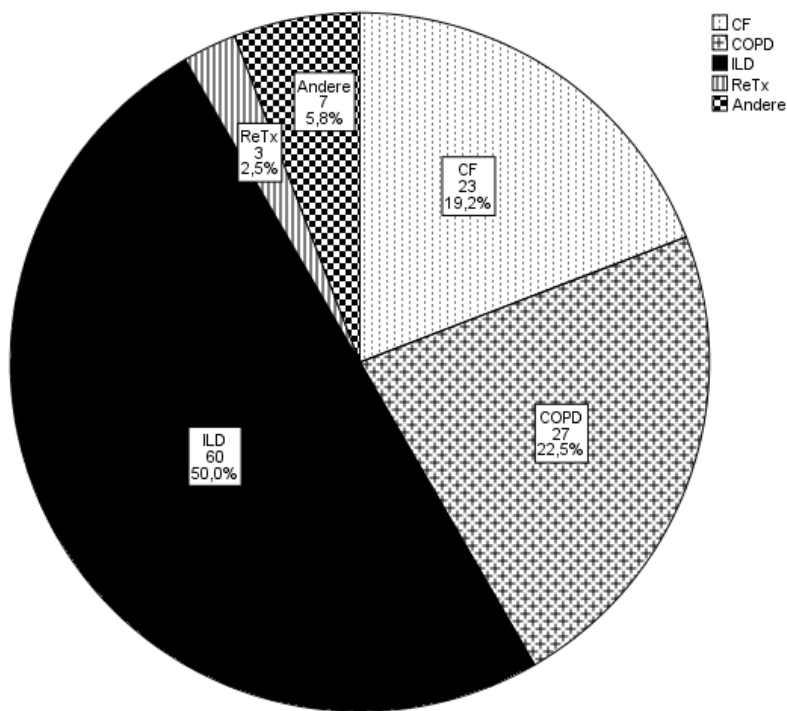


**Abbildung 1:** Darstellung des Beobachtungszeitraums in Tagen (n=120). Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer oder Extremwerte sind nicht zu sehen.

##### 3.1.2 Indikation und Transplantationsart

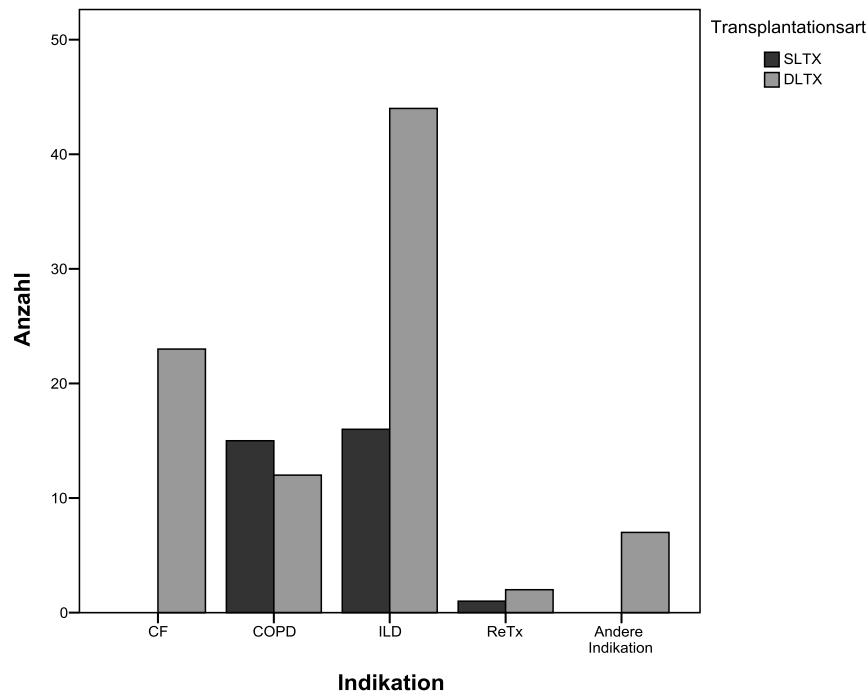
Interstitielle Lungenerkrankungen stellten mit 50 % (n=60) die häufigste Indikation zur Transplantation in der untersuchten Population dar. Die COPD, sowie die zystische Fibrose

stellten ebenfalls zwei große Gruppen mit 22,5 % und 19,2 % dar. Lediglich 3 der 120 Patienten erhielten eine Retransplantation auf der Basis einer Allograftdysfunktion. In 7 Fällen wurde die Indikation aufgrund einer anderen selteneren Erkrankung gestellt. Diese waren: idiopathische pulmonale Hypertonie, chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie (CTEPH), das Kartagener-Syndrom, Lymphangioleiomyomatose.



**Abbildung 2:** Darstellung der Population in Abhängigkeit von der Indikation, welche zur Lungentransplantation geführt hat. CF: Zystische Fibrose. COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung. ILD: Interstitielle Lungenerkrankungen. ReTx: Retransplantation. Andere: Seltener Indikationen als die bisher aufgeführten (z.B. pulmonale Hypertonie).

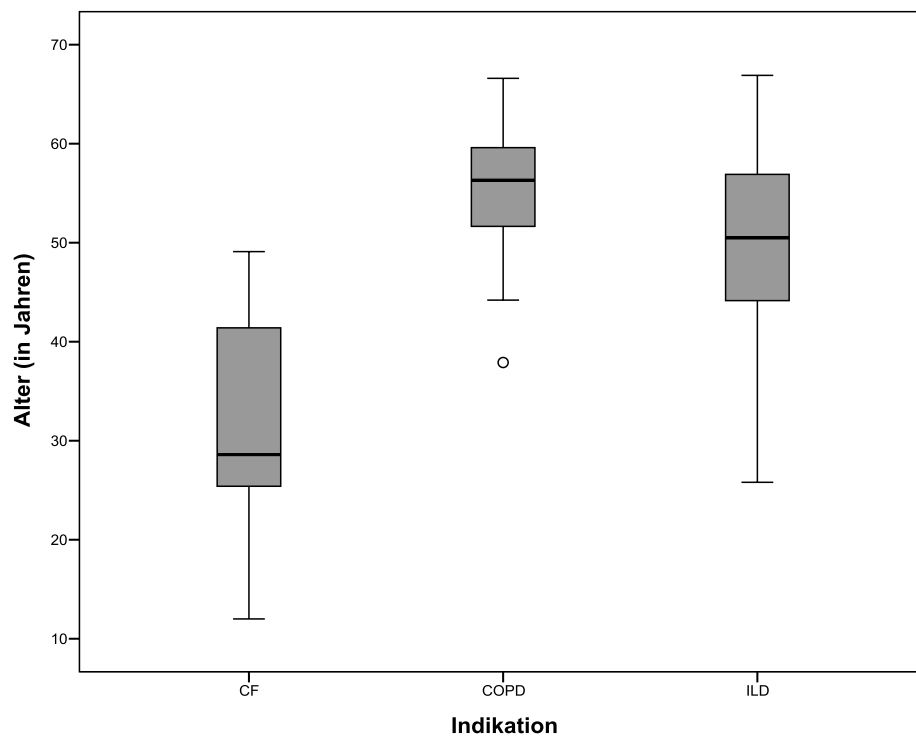
Bei 88 der 120 Patienten (73,3 %) wurde eine doppelseitige Lungentransplantation (DLTX) durchgeführt. 32 Patienten (26,7 %) erhielten eine einseitige Lungentransplantation (SLTX). Wie in der folgenden Abbildung zu sehen ist, kamen die unterschiedlichen Transplantationsarten in Abhängigkeit der Indikation zum Einsatz. Bei der zystischen Fibrose wurde immer eine doppelseitige Lungentransplantation durchgeführt. Bei der Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen wurden zum überwiegenden Teil doppelseitige Lungentransplantationen (44 von 60; 73,3 %) vorgenommen. Bei der COPD zeigte sich ein relativ ausgeglichenes Verhältnis. Von 27 Patienten erhielten 12 (44,4 %) eine DLTX.



**Abbildung 3:** Darstellung der Transplantationsart in Abhängigkeit von der Transplantationsindikation. DLTX: doppelseitige Lungentransplantation, SLTX: einseitige Lungentransplantation, ReTx: Retransplantation, CF: Zystische Fibrose, ILD: Interstitielle Lungenerkrankungen, COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung.

### 3.1.3 Demographische Merkmale: Geschlecht und Alter

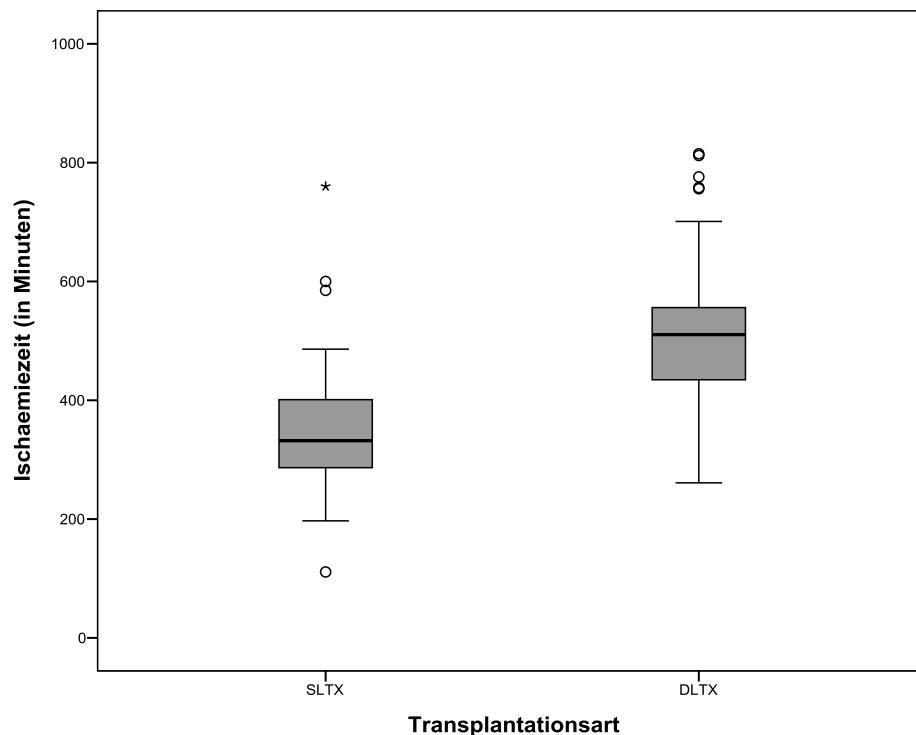
Die Geschlechterverteilung in der Gesamtpopulation zeigte sich nahezu ausgeglichen. 45,8 % der Patienten waren männlich, 54,2 % weiblich. Das Alter bei Transplantation lag durchschnittlich bei  $46,8 \pm 12,6$  Jahren. Der Altersmedian lag bei 48,6 Jahren. In Abhängigkeit von der Grunderkrankung zeigte sich ein unterschiedliches Altersspektrum bei Transplantation. So lag das mittlere Alter bei Transplantation bei Patienten mit CF bei  $32,8 \pm 10,3$  Jahren, bei der COPD bei  $55,5 \pm 6,8$  Jahren und bei den ILD bei  $49,8 \pm 9,9$  Jahren.



**Abbildung 4:** Darstellung des Alters (in Jahren) in Abhängigkeit von der Indikation zur Lungentransplantation. Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer (Kreis): Wert, dessen Abstand vom 25 %-Quartil nach unten bzw. vom 75 %-Quartil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegen. CF: Zystische Fibrose, ILD: Interstitielle Lungenerkrankungen, COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung.

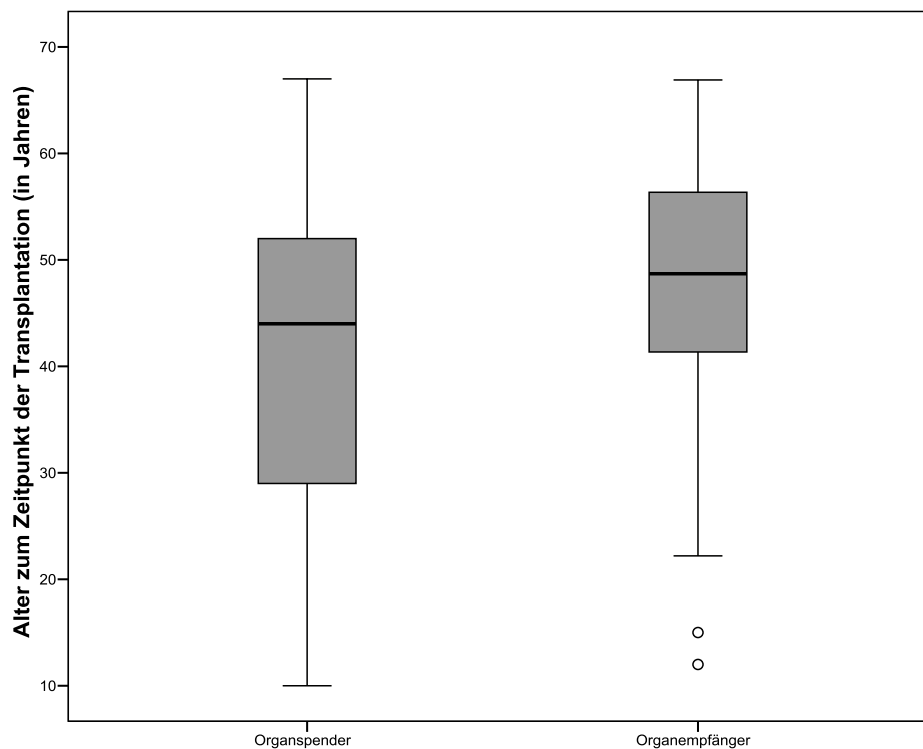
### 3.1.4 Ischämiezeit und Alter des Organspenders

Die Ischämiezeit lag im Mittel bei  $468 \pm 135$  Minuten und der Median bei 473 Minuten. Für die unterschiedlichen Transplantationsarten ergab sich ein erwarteter statistisch signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ).



**Abbildung 5:** Ischämiezeit in Abhängigkeit der Transplantationsart. Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer (Kreis): Werte, deren Abstand vom 25 %-Quartil nach unten bzw. vom 75 %-Quartil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegen. Extremwerte (Stern): Der Abstand von dem 25 %- oder dem 75 %-Quartil beträgt mehr als das 3-fache der Boxhöhe. DLTX: doppelseitige Lungentransplantation, SLTX: einseitige Lungentransplantation.

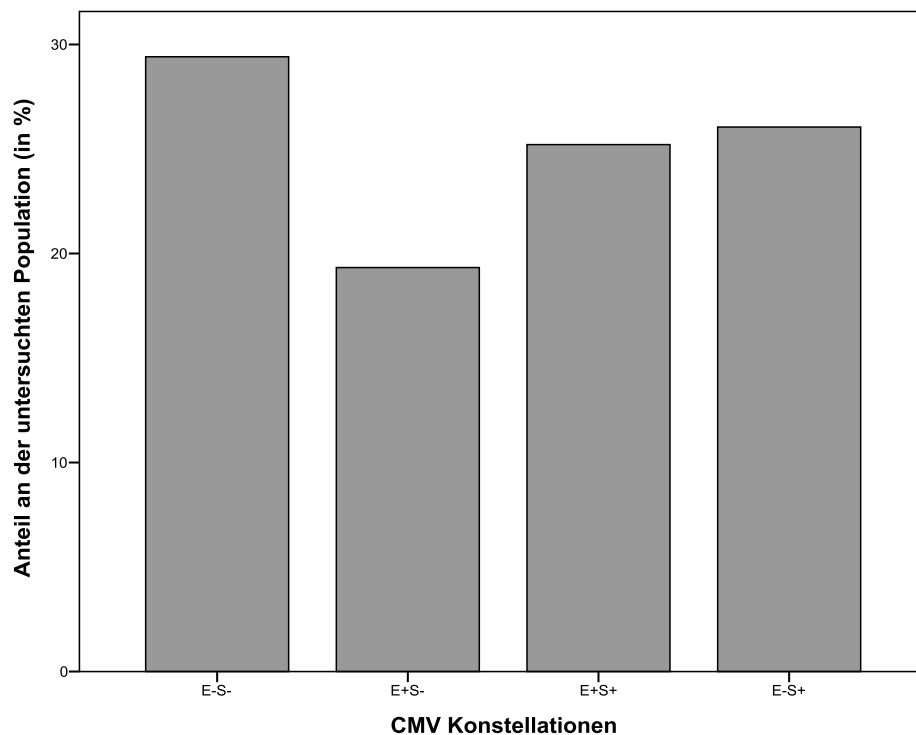
Die Organspender waren im Durchschnitt  $40,5 \pm 14,1$  Jahre alt. Im Vergleich mit dem Alter der Empfänger waren diese somit durchschnittlich 6,3 Jahre jünger.



**Abbildung 6:** Darstellung des Alters der Organspender sowie Organempfänger. Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer (Kreis): Werte, deren Abstand vom 25 %-Quartil nach unten bzw. vom 75 %-Quartil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegen.

### 3.1.5 CMV-Status des Spenders und Empfängers

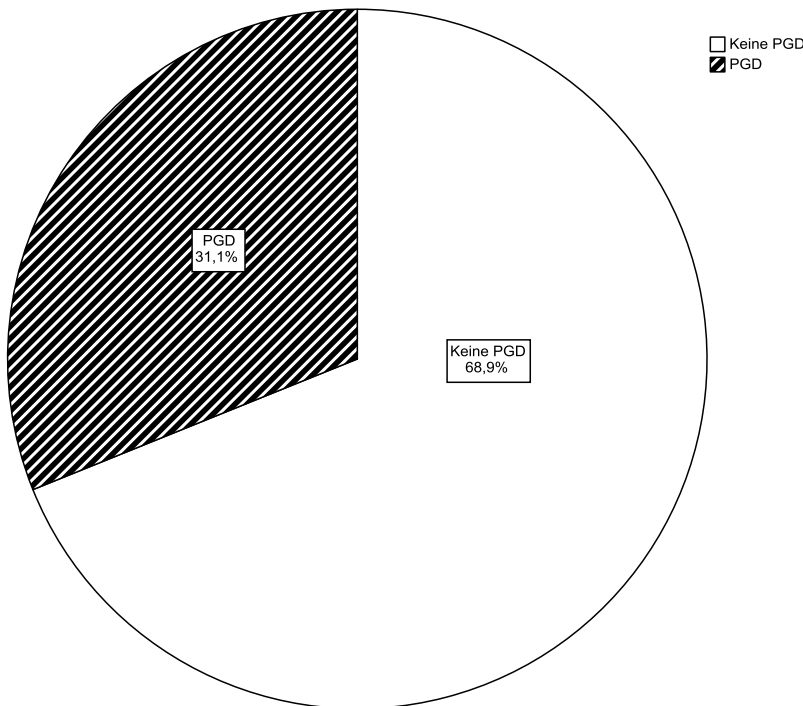
Insgesamt waren von den 120 transplantierten Patienten 67 (55,8 %) vor der Transplantation CMV-negativ, 53 (44,2 %) waren CMV-positiv. Von den Spendern waren 59 (49,2 %) CMV-negativ und 61 (50,8 %) CMV-positiv. Die in der Population vorliegende Verteilung der daraus resultierenden serologischen Konstellationen zeigt folgende Grafik:



**Abbildung 7:** CMV-Konstellationen des Studienkollektivs. E-S-: Empfänger und Spender CMV-negativ. E+S-: Empfänger CMV-positiv, Spender-CMV-negativ. E+S+: Empfänger und Spender CMV-positiv. E-S+: Empfänger CMV-negativ und Spender CMV-positiv.

### 3.1.6 Primäre Transplantatdysfunktion (PGD)

Bei 37 Patienten (31,1 %) trat eine primäre Transplantatdysfunktion auf, bei 82 (68,9 %) trat keine PGD auf. Insgesamt entwickelte somit ca. jeder dritte Patient eine PGD.



**Abbildung 8:** Darstellung des Anteils der Patienten mit PGD (n=37) gegenüber den Patienten ohne PGD (n=82). PGD: primary graft dysfunction.

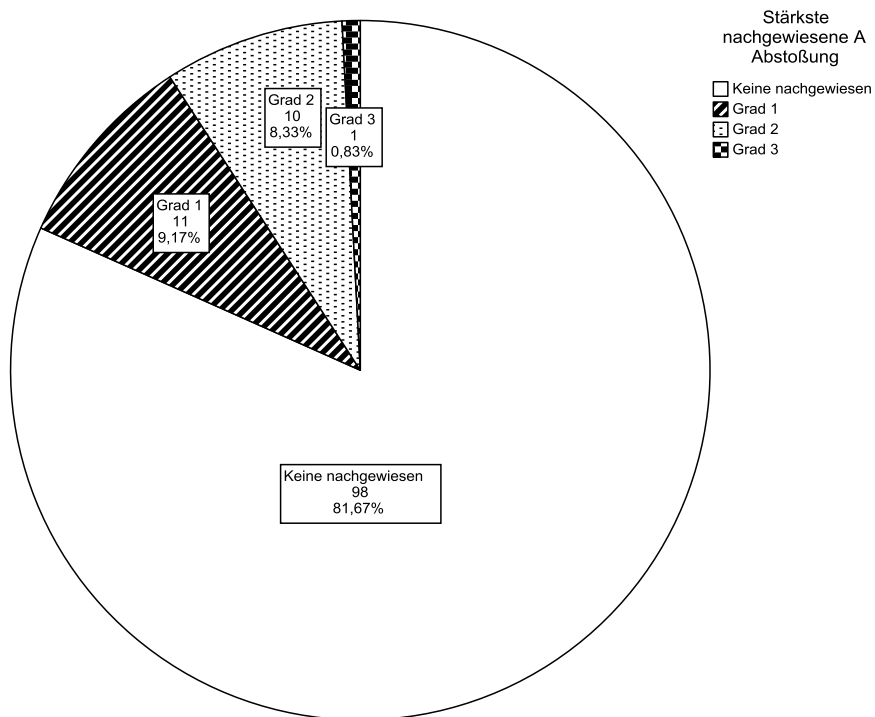
### 3.1.7 Akute zelluläre Abstoßungen und lymphozytäre Bronchiolitis

Durchschnittlich wurden 2,92 Biopsien pro Patient im Verlauf des Beobachtungszeitraums durchgeführt.

#### Akute zelluläre Abstoßung, A nach ISHLT

Bei 22 (18,3 %) der 120 Patienten konnte eine akute zelluläre Abstoßung mittels Biopsie festgestellt werden. 19 (15,8 %) erlitten eine einmalige Abstoßungsreaktion. Bei 4 (3,3 %) der Patienten traten im Beobachtungszeitraum mehrmalig eine akute zelluläre Abstoßungen auf. Bezüglich des Schweregrades gemäß der ISHLT-Klassifikation war bei 11 Patienten die stärkste Abstoßung vom Grad 1, bei 10 Patienten vom Grad 2 und bei einem Patienten vom Grad 3. In der folgenden Abbildung findet sich die Darstellung mittels Kreisdiagramm.

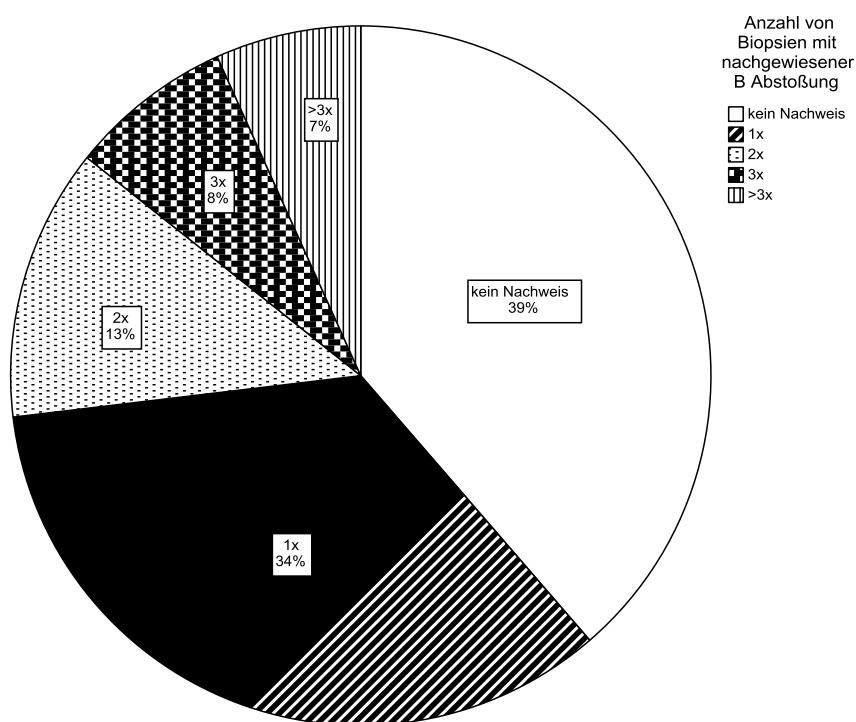




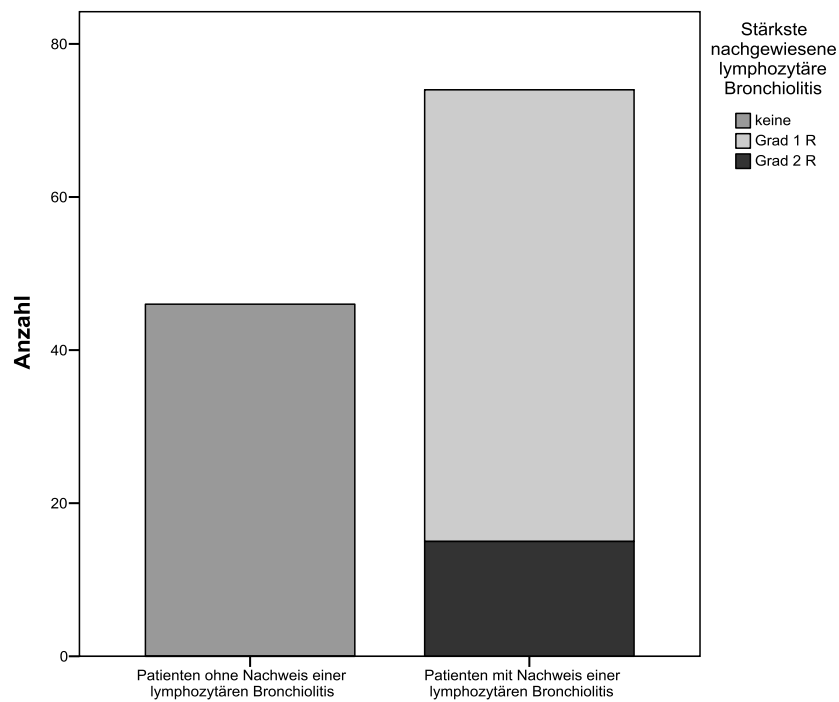
**Abbildung 9:** Darstellung der Patientenpopulation in Abhängigkeit der entsprechend schwerstgradig nachgewiesenen akuten zellulären Abstoßungsreaktion vom Typ A nach ISHLT.

## Lymphozytäre Bronchiolitis, B nach ISHLT

Bei 74 (61,6 %) der Patienten konnte mindestens eine Episode einer lymphozytären Bronchiolitis nachgewiesen werden. Bei 46 Patienten (38,3 %) konnte im gesamten Beobachtungszeitraum keine Auffälligkeiten dies bezüglich festgestellt werden. Bei 41 Patienten trat eine Episode, bei 16 Patienten zwei Episoden und bei 17 Patienten mindestens 3 Episoden auf. Die Ergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt. Bei 59 (79,8 %) der Patienten mit einer lymphozytären Bronchiolitis war die Abstoßung höchstens vom Grad 1 R. Bei 15 (20,2 %) vom Grad 2 R.



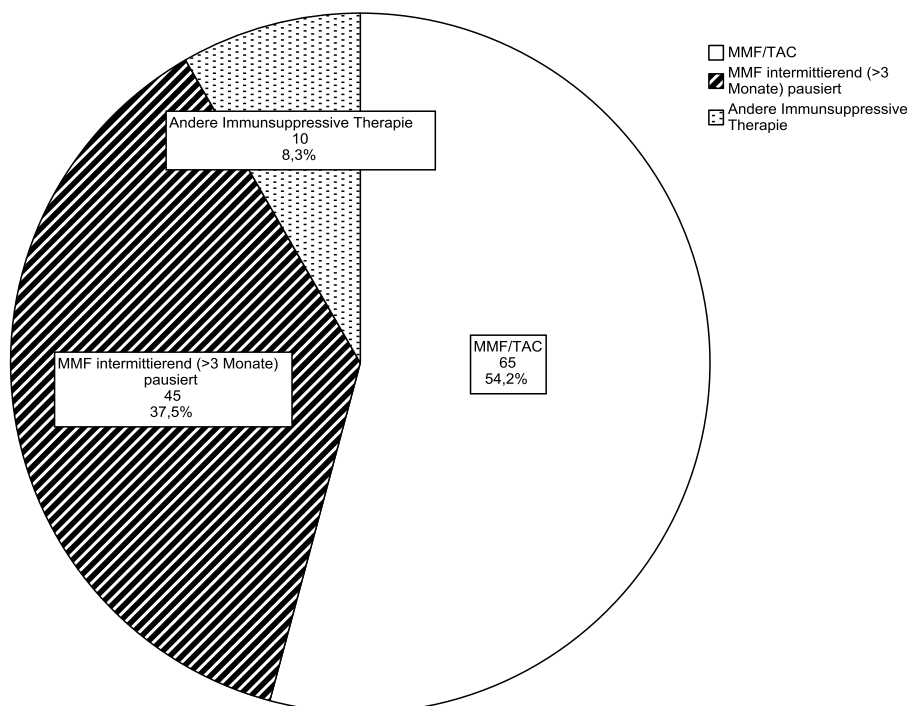
**Abbildung 10:** Darstellung der Population in Abhängigkeit der Anzahl biotisch nachgewiesener B-Abstoßungen. Kein Nachweis (n=46), einmalig (n=41), zweimalig (n=16), dreimalig (n=9), mehr als dreimalig (n=8).



**Abbildung 11:** Darstellung der Population in Abhängigkeit des Nachweises einer lymphozytären Bronchiolitis sowie dem entsprechend höchsten Grad. Patienten ohne Nachweis einer lymphozytären Bronchiolitis (n=46). Patienten mit Nachweis Grad 1 R (n=59), Grad 2 R (n=15).

### 3.1.8 Immunsuppressive Therapie

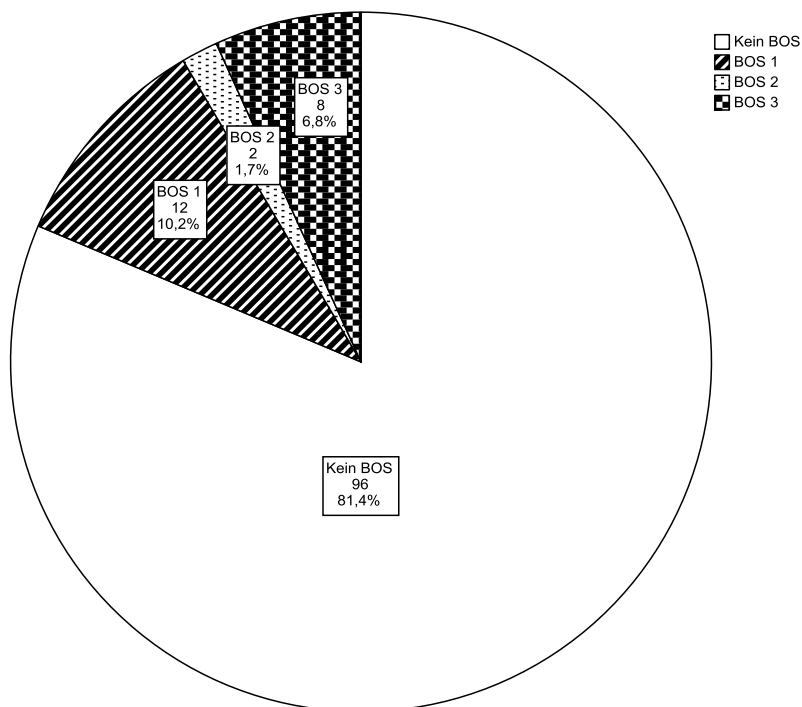
Insgesamt erhielten 110 (91,7 %) aller Patienten neben Kortikosteroiden das Standardregime aus MMF und Tacrolimus. Bei 40,9 % dieser Patienten war intermittierend das Pausieren von MMF für mindestens 3 Monate nötig. Beispielsweise aufgrund von infektiösen Komplikationen oder einer persistierenden Leukopenie. Die restlichen 10 Patienten (8,1 %) erhielten längerfristig eine andere immunsuppressive Erhaltungstherapie. Meistens eine Kombination aus Azathioprin und Ciclosporin.



**Abbildung 12:** Übersicht über die Einteilung des Patientenkollektivs in 3 Gruppen, in Abhängigkeit der erhaltenen immunsuppressiven Therapie. MMF: Mycophenolatmofetil. TAC: Tacrolimus.

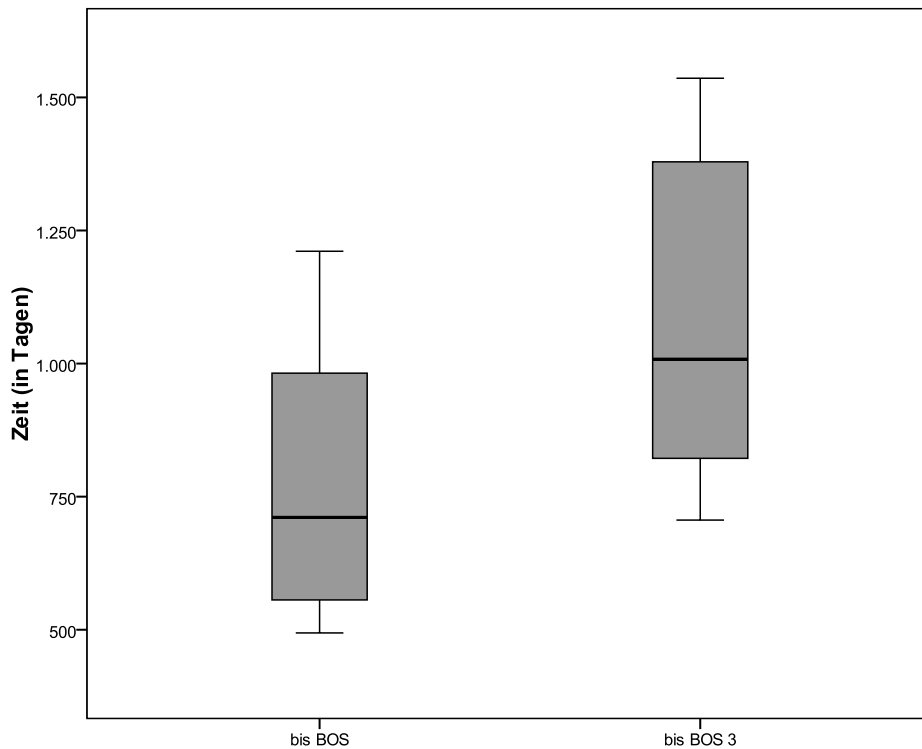
### 3.1.9 Bronchiolitis obliterans / Bronchiolitis obliterans Syndrom

22 Patienten (18,7 %) entwickelten während des Beobachtungszeitraumes ein BOS (n=118; Bei einem Patienten waren ungenügende Lungenfunktionsdaten vorhanden und ein weiterer ist bereits innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation verstorben (Ausschluss-Kriterium nach Studienplanung). Das BOS trat im Mittel nach  $837 \pm 418$  Tagen auf. Unter einem BOS Grad 1 litten 12 Patienten (10,2 %), unter einem BOS Grad 2 litten 2 Patienten (1,7 %) und unter einem BOS Grad 3 litten 8 Patienten (6,8 %). Von den Patienten mit einem Beobachtungszeitraum von mindestens 3 Jahren (n=70) entwickelten 12 (17,1 %) ein BOS innerhalb der ersten drei Jahre.



**Abbildung 13:** Darstellung der Verteilung des BOS in der Population nach Schweregrad. Kein BOS, BOS Grad 1, BOS Grad 2 und BOS Grad 3. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

Der durchschnittliche Zeitraum bis zum Auftreten des BOS Grad 3 lag bei  $1083 \pm 311$  Tagen.



**Abbildung 14:** Darstellung der Zeit bis zum Auftreten des BOS sowie BOS 3. Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer oder Extremwerte sind nicht zu sehen. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

### 3.1.10 HLA-Antikörper

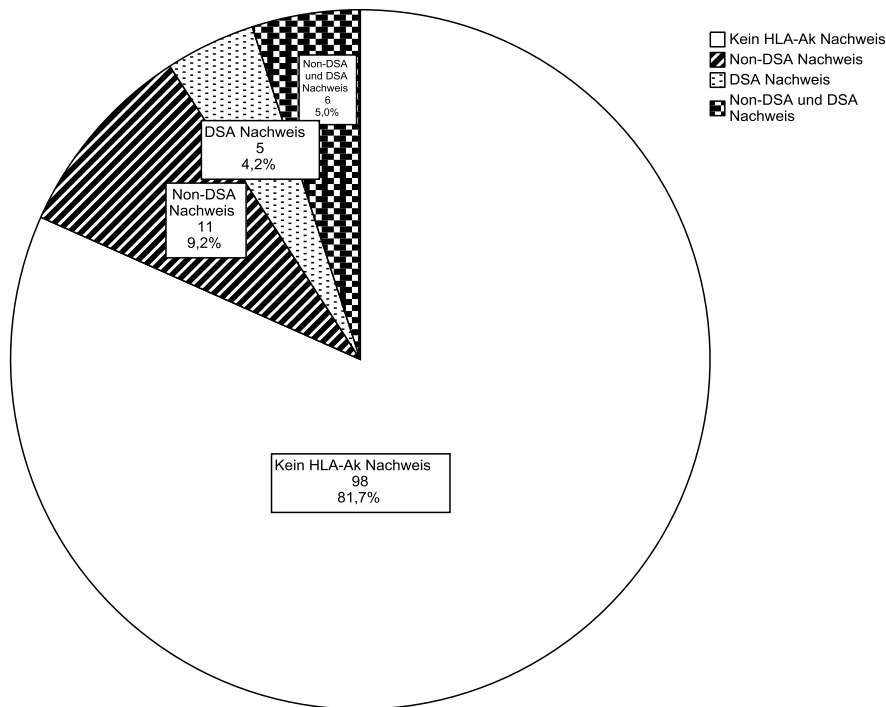
#### 3.1.10.1 Präformierte Antikörper

Alle 120 Patienten hatten zum Zeitpunkt der Transplantation ein negatives Crossmatch. Bei 19 (17,1 %) von 111 Patienten mit verfügbaren Antikörpermessungen vor der Transplantation konnte ein HLA-Antikörper nachgewiesen werden. In Kombination mit der HLA-Typisierung des Spenders lag bei 17 dieser Patienten ausschließlich ein non-DSA vor. Bei 2 Patienten zeigte sich darüber hinaus ein DSA.

#### 3.1.10.2 HLA-Antikörper nach Transplantation

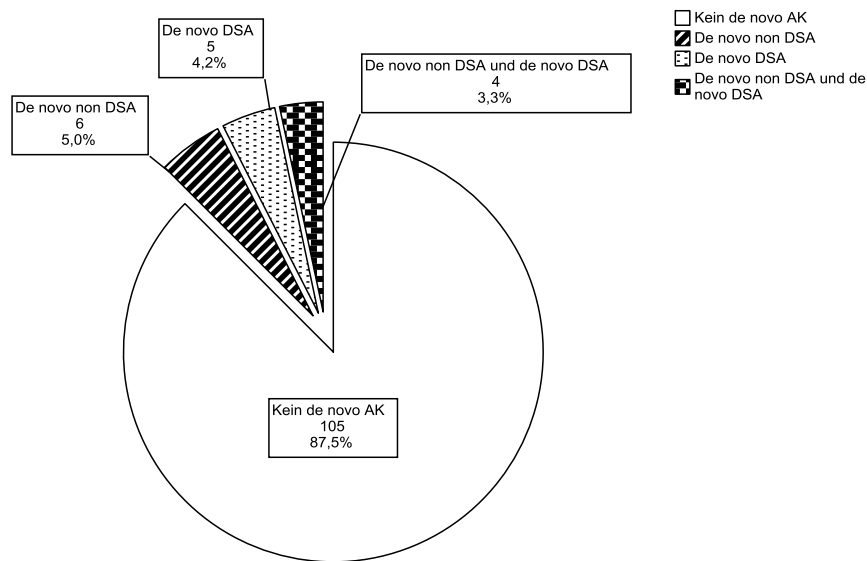
Insgesamt wurden durchschnittlich  $2,5 \pm 1,2$  Antikörpermessungen pro Patient durchgeführt. Von der 120 Patienten umfassenden Kohorte konnten bei 22 Patienten (17,8 %) ein HLA-Antikörper nach Transplantation nachgewiesen werden. Bei 17 Patienten (14,1 %) wurden

non-DSA festgestellt. Bei 11 Patienten (9,1 %) lagen DSA vor (mit einer MFI von >3000). Bei 6 Patienten lag sowohl ein non-DSA sowie ein DSA vor (siehe Abbildung Nr. 15). HLA-Antikörper gegen HLA-I-Merkmale lagen bei 10 Patienten (8,3 %), gegen HLA-II-Merkmale bei 16 Patienten (13,3 %) und gegen beide HLA-Merkmale bei 4 Patienten (3,3 %) vor.



**Abbildung 15:** Darstellung der Population (n=120) in Abhängigkeit vom Nachweis von HLA-Antikörpern nach Transplantation. Bei 11 Patienten konnten ein DSA nach Tx nachgewiesen werden. Bei 17 Patienten ein Non-DNA. DSA: Donor-spezifischer HLA-Antikörper. Non-DNA: Nicht-donor-spezifischer HLA-Antikörper.

*De novo*, d.h. neu aufgetretene, HLA-Antikörper konnten bei 15 Patienten (12,5 %) identifiziert werden. Bei 10 Patienten (8,3 %) zeigten sich *de novo* non-DNA. Bei 9 Patienten (7,5 %) *de novo* DSA. Davon hatten 4 Patienten (3,3 %) sowohl *de novo* DSA sowie *de novo* non-DNA.



**Abbildung 16:** Darstellung der Population in Abhängigkeit vom Auftreten eines *de novo* HLA-Antikörpers. Bei 10 Patienten konnte ein *de novo* non DSA nachgewiesen werden und bei 9 Patienten ein *de novo* DSA. DSA: Donor-spezifischer HLA-Antikörper. Non-DSA: Nicht-donor-spezifischer HLA-Antikörper. *De novo*, d.h. neu aufgetreten.

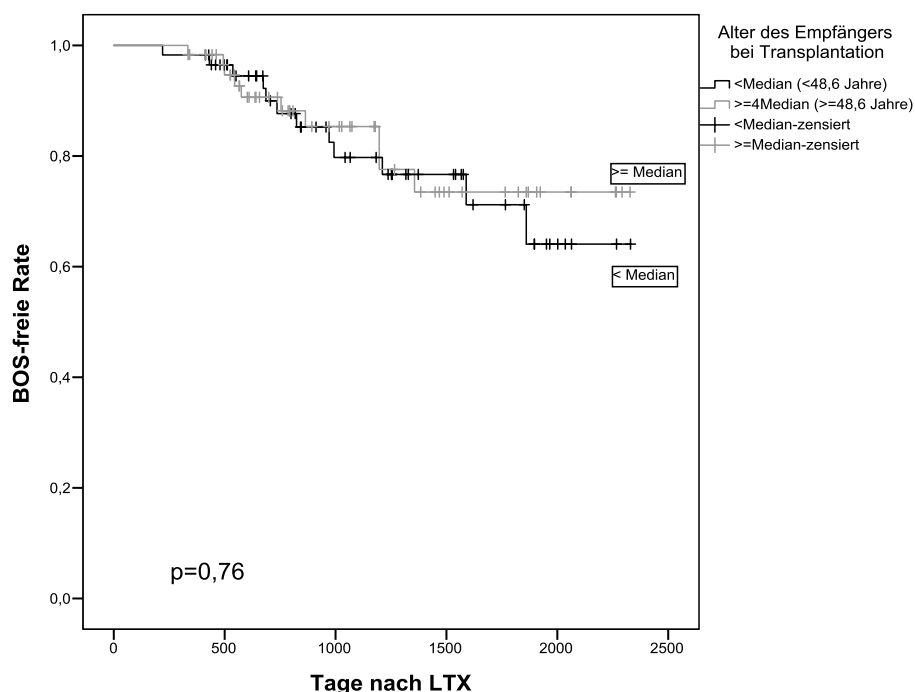
*De novo* Antikörper gegen HLA-I-Antigene wurden bei 4 (3,3 %) und gegen HLA-II-Antigene bei 11 Patienten (9,2 %) identifiziert. Von den 9 Patienten (7,5 %) mit *de novo* DSA waren bei 3 Patienten (2,5 %) die Antikörper gegen HLA-I-Merkmale gerichtet und bei 6 Patienten (5,0 %) gegen HLA-II-Merkmale.



### 3.2 Risikofaktorenanalyse für die Entwicklung des BOS und BOS 3

#### 3.2.1 Demographische Variablen: Alter und Geschlecht

Patienten, welche ein BOS entwickelten, waren im Durchschnitt  $46,2 \pm 12,0$  Jahre alt, Patienten ohne BOS  $47,1 \pm 12,9$  Jahre. Patienten mit BOS 3 waren durchschnittlich  $42,6 \pm 12,7$  Jahre alt. Eine statistische Signifikanz ergab sich diesbezüglich nicht ( $p=0,63$  für BOS und  $p=0,26$  für BOS 3). Wie auch in der folgenden Graphik veranschaulicht, ergab eine Kaplan-Meier-Analyse nach dichotomer Einteilung durch den Altersmedian (48,6 Jahre) ebenso keinen statistisch signifikanten Unterschied.



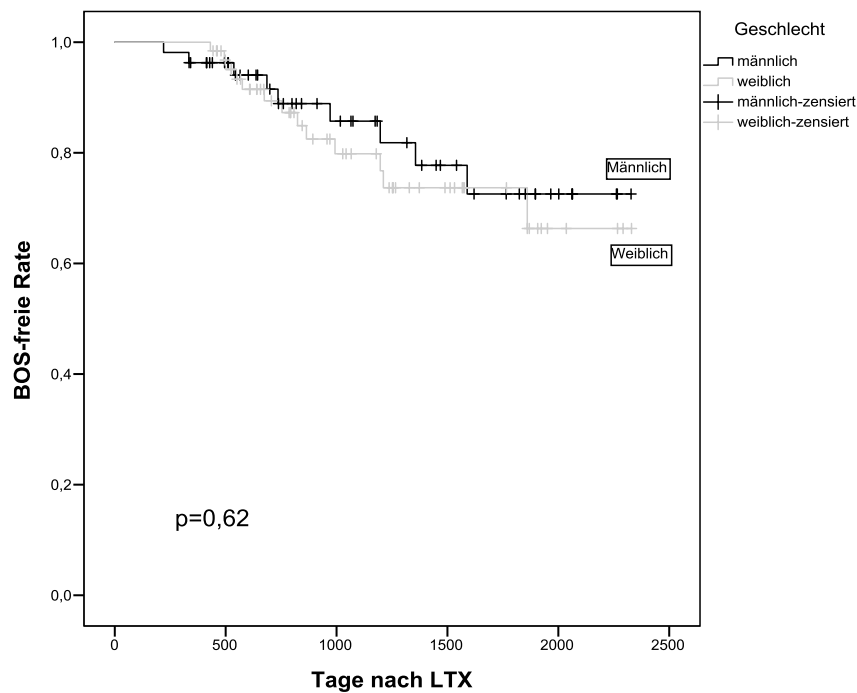
**Abbildung 17:** BOS-freie Rate nach Lungentransplantation in Abhängigkeit vom Alter. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

In Abhängigkeit vom Geschlecht ergab sich eine ausgeglichene Verteilung in Bezug auf das BOS. So entwickelten 16,7 % der Männer sowie 20,3 % der Frauen ein BOS ( $p=0,62$ ). Von den 54 Männern und von den 64 Frauen erlitten jeweils 4 ein schweres BOS Grad 3. Eine statistische Signifikanz ergab sich diesbezüglich in der Kaplan-Meier-Analyse nicht ( $p=0,80$ ).

**Tabelle 3:** Verteilung des BOS und BOS 3 nach der Geschlechterverteilung. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

	Gesamtanzahl	BOS	BOS 3
<b>Männlich</b>	54	9 / 16,7 %	4 / 7,4 %
<b>Weiblich</b>	64	13 / 20,3 %	4 / 6,3 %

Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.



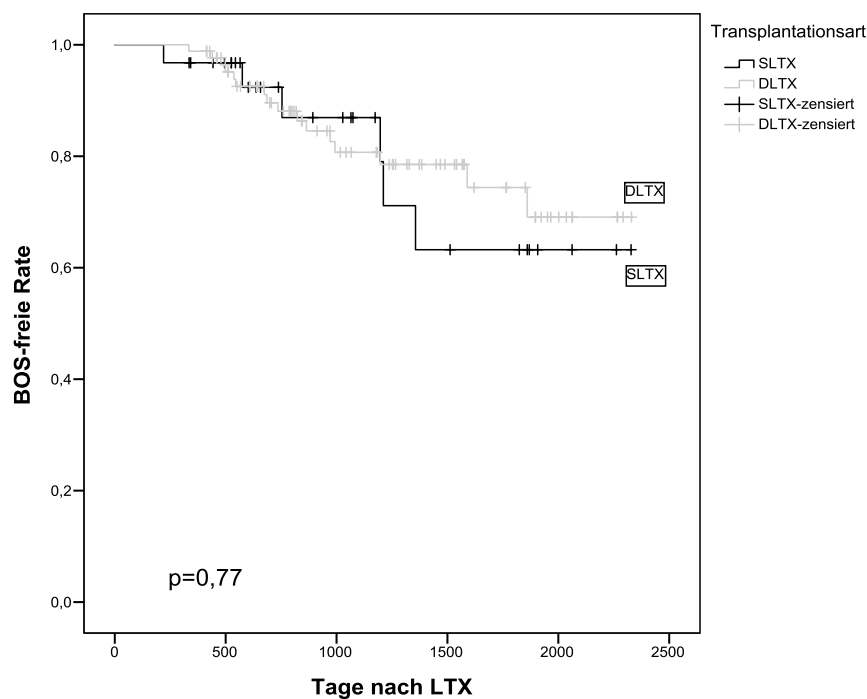
**Abbildung 18:** BOS-freie Rate nach Lungentransplantation in Abhängigkeit vom Geschlecht. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

### 3.2.2 Transplantationsart und Grunderkrankung

Patienten, welche eine doppelseitige Lungentransplantation erhalten haben, entwickelten in 18,4% ein BOS bzw. 6,9 % ein BOS 3. Patienten, welche eine einseitige Lungentransplantation erhalten haben entwickelten in 19,4% ein BOS bzw. 6,5 % ein BOS 3. Kaplan-Meier Analysen ergaben keinen bedeutenden Unterschied ( $p=0,77$  für BOS und  $p=0,98$  für BOS 3).

**Tabelle 4:** Anteil der Patienten mit BOS in Abhängigkeit von der Transplantationsart. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Zweiseitige Lungentransplantation.

	Gesamtanzahl	BOS	BOS 3
<b>SLTX</b>	31	6 / 19,4 %	2 / 6,5 %
<b>DLTX</b>	87	16 / 18,4 %	6 / 6,9 %
Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation.			



**Abbildung 19:** BOS-freie Rate nach Lungentransplantation in Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Transplantationsart. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. DLTX: doppelseitige Lungentransplantation, SLTX: einseitige Lungentransplantation.

Der Anteil an Patienten, welche ein BOS entwickelten, war in der Gruppe der Patienten mit ILD am höchsten (22 %). In der Gruppe der COPD Patienten litten nur 14,8 %, in der Gruppe der CF Patienten nur 13,0 % im Verlauf an einem BOS. Der Unterschied zeigte sich jedoch nicht statistisch signifikant ( $p=0,81$ ).

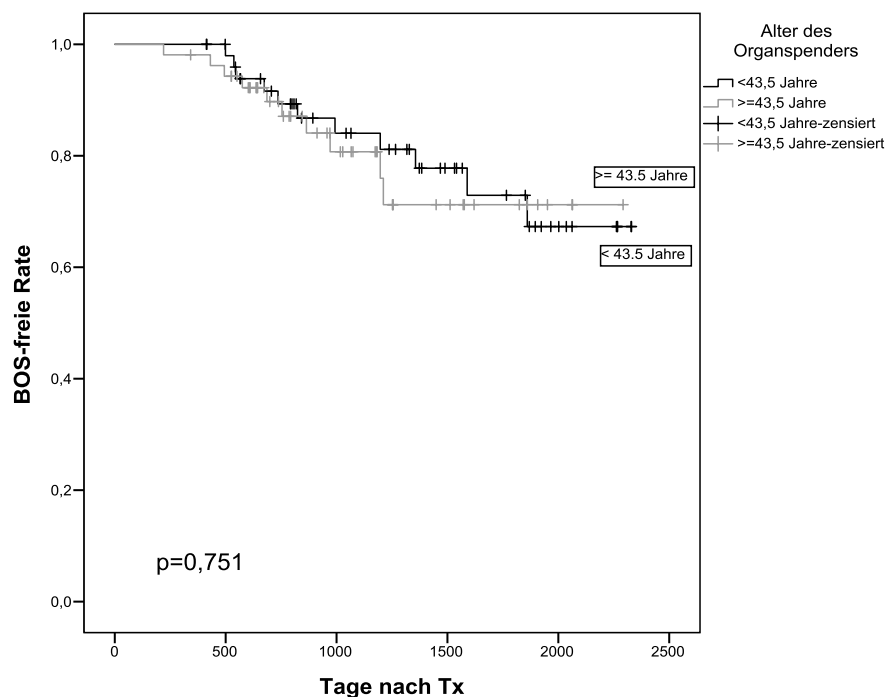
**Tabelle 5:** Übersicht über das Auftreten des BOS in Abhängigkeit der Indikation zur LTX.

	<b>Gesamtzahl</b>	<b>BOS</b>
ILD	59	13 / 22,0 %
COPD	27	4 / 14,8 %
CF	23	3 / 13,0 %
Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. CF: Cystische Fibrose. ILD: Interstitielle Lungenerkrankung. COPD: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung.		

### 3.2.3 Ischämiezeit und Alter des Organspenders

Patienten mit BOS hatten eine durchschnittliche maximale Ischämiezeit von  $431 \pm 132$  Minuten. Patienten ohne BOS  $472 \pm 132$  Minuten ( $p=0,193$ ).

Die Organspender von Patienten, welche ein BOS entwickelt haben, waren im Durchschnitt mit  $41,1 \pm 14,4$  Jahren geringfügig älter als Patienten ohne BOS  $40,3 \pm 14,2$  Jahre ( $p=0,727$ ). Auch nach Aufteilung der Population durch den Median (43,5 Jahre) ergab sich in der Kaplan-Meier-Analyse keine statistisch signifikante Assoziation an das BOS ( $p=0,751$ ).

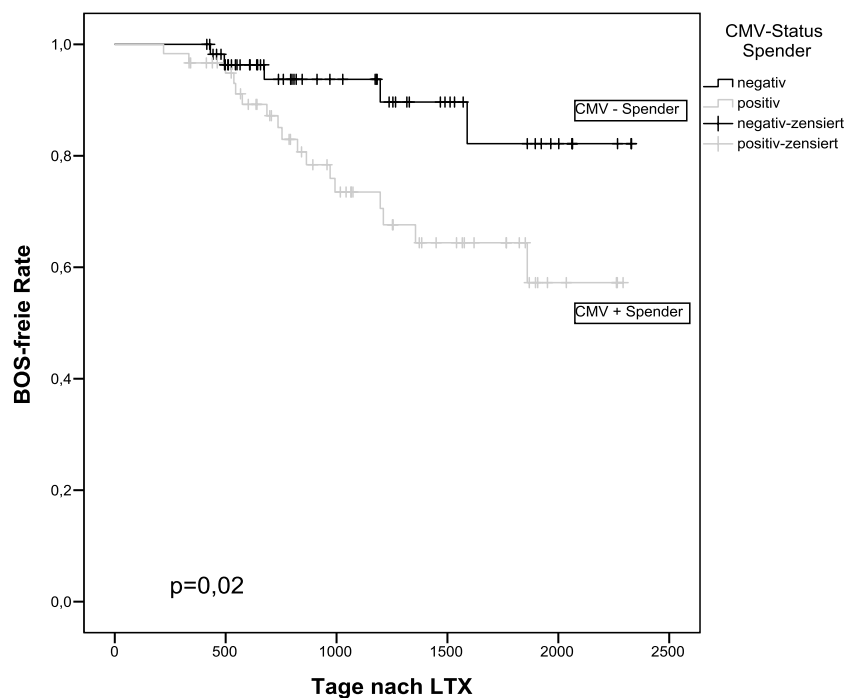


**Abbildung 20:** BOS-freie Rate nach Lungentransplantation in Abhängigkeit vom Alter des Organspenders. Die Differenzierung der Population erfolgte durch den Median (43,5 Jahre). LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

### 3.2.4 CMV-Status des Spenders, Empfängers und CMV-Mismatch

#### CMV-Status Spender

Von den insgesamt 58 Patienten, welche ein Spenderorgan von einem CMV-negativen Spender erhalten hatten, entwickelten 5 (8,6 %) ein BOS. Nur bei einem Patient manifestierte sich ein BOS Grad 3. Im Vergleich dazu trat bei 17 (28,3 %) der 60 Patienten, welche ein Spenderorgan von einem CMV-positiven Spender erhalten hatten, ein BOS auf. Bei 7 (11,7 %) handelte es sich dabei um ein BOS Grad 3. Die Kaplan-Meier-Analyse zeigte eine signifikant verminderte Freiheit von BOS auf ( $p=0,020$ ). Für eine verminderte Freiheit von BOS Grad 3 zeigte sich ein Trend, aber keine Signifikanz ( $p=0,068$ ). Das durchschnittliche Auftreten des BOS lag bei Patienten mit CMV-positiven Spendern bei  $826 \pm 408$  Tagen nach Transplantation und bei Patienten mit CMV-negativen Spendern bei  $870 \pm 499$  Tagen nach Transplantation ( $p=0,817$ ). Der CMV-Status des Spenders stellt in den Analysen einen Risikofaktor für das BOS dar (Siehe Abbildung 21).



**Abbildung 21:** BOS-freier Anteil in Abhängigkeit vom CMV-Status des Spenders. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. CMV: Cytomegalievirus

## CMV-Status Empfänger

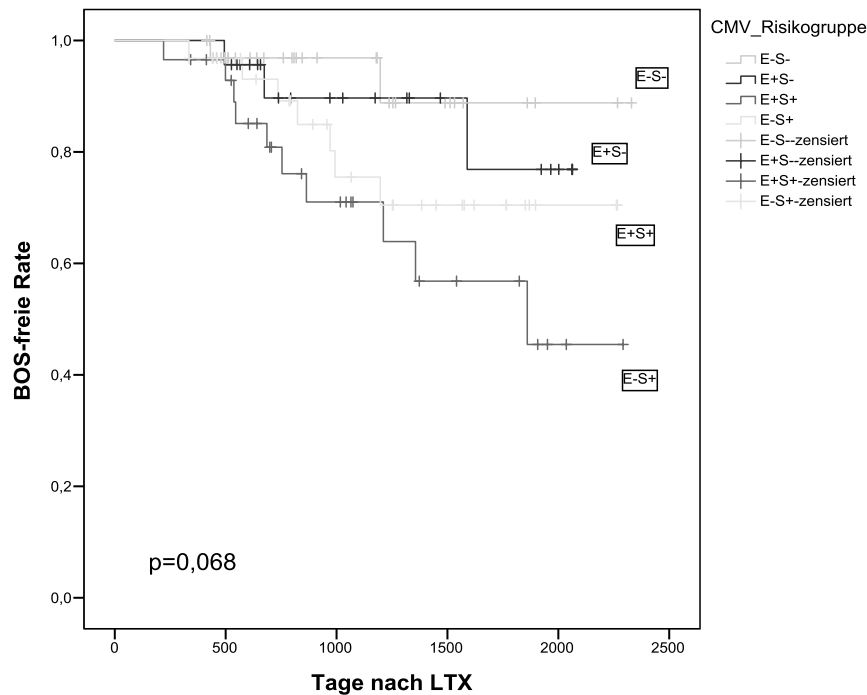
Bei 9 von 66 (13,6 %) CMV-negativen Empfängern und bei 13 von 52 (25 %) CMV-positiven Empfängern entwickelte sich ein BOS. Eine Kaplan-Meier-Analyse ergab keine diesbezügliche Signifikanz ( $p=0,178$ ). Die Manifestation lag bei CMV-negativen Empfängern durchschnittlich nach  $806 \pm 314$  Tagen im Vergleich zu  $859 \pm 389$  Tagen bei CMV-positiven Empfängern ( $p=0,780$ ). Von den 66 CMV-negativen Empfängern entwickelten 4 (6,1 %) ein BOS 3 und von den 52 CMV-positiven Empfängern entwickelten ebenso 4 (7,7 %) ein BOS 3 ( $p=0,738$ ). Das durchschnittliche Auftreten des BOS 3 war bei CMV-positiven Empfängern nach  $1015 \pm 372$  Tagen etwas früher als bei CMV-negativen Empfängern, bei denen dieses im Mittel nach  $1150 \pm 274$  Tagen auftrat ( $p=0,582$ ).

## CMV-Risikogruppen

Eine Übersicht über die Häufigkeit des Auftretens von BOS in Abhängigkeit der CMV-Risikogruppe zeigt die folgende Tabelle 6. In der dritten und vierten Gruppe trat das BOS relativ gesehen häufiger auf als in Gruppe 1 und 2, wobei sich in der Kaplan-Meier-Analyse diesbezüglich ein statistischer Trend zeigte ( $p=0,068$ ).

**Tabelle 6:** Übersicht CMV Risikogruppen, BOS und durchschnittliche Dauer bis zur Manifestation des BOS.

CMV Risikogruppe	Anzahl/(%)	BOS	Zeit zum BOS (Tage)
Empfänger negativ Spender negativ	34 (29,1 %)	2 (5,9 %)	$814 \pm 542$
Empfänger positiv Spender negativ	23 (19,7 %)	3 (13 %)	$919 \pm 587$
Empfänger positiv Spender positiv	29 (24,8 %)	10 (34,5 %)	$841 \pm 490$
Empfänger negativ Spender positiv	31 (26,5 %)	7 (22,6 %)	$804 \pm 288$
Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. CMV: Cytomegalie-Virus.			

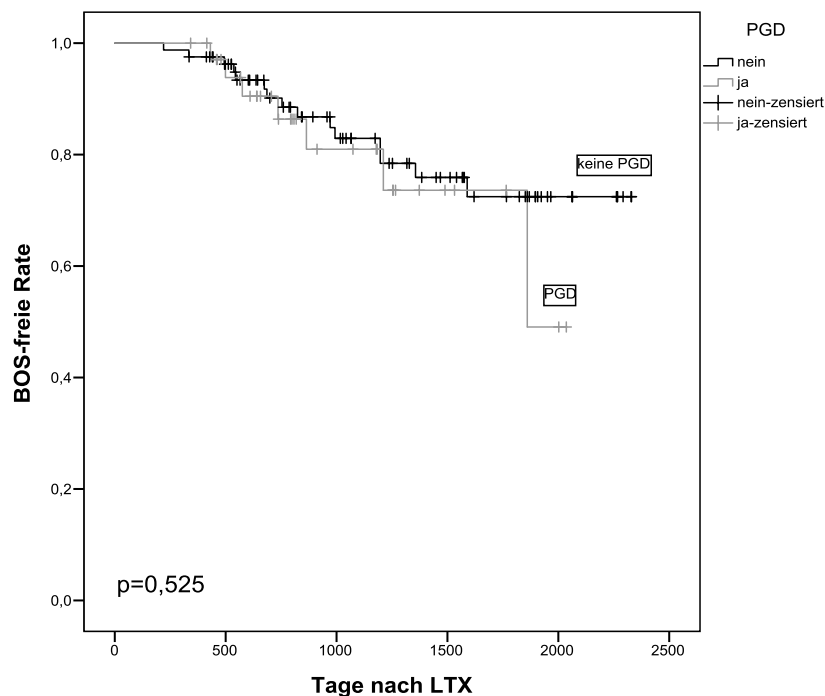


**Abbildung 22:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit vom CMV-Status des Spenders. Abhängigkeit der CMV-Konstellation von Empfänger und Spender. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. E-S-: Empfänger negativ Spender negativ, E+S-: Empfänger positiv Spender negativ, E+S+: Empfänger positiv Spender positiv, E-S+: Empfänger negativ Spender positiv.

Stellte man die Hochrisikogruppe aus Patienten, welche einen CMV-negativen Status besitzen und ein Organ von einem CMV-positiven Spender erhalten haben, den restlichen Patienten gegenüber, so entwickelten diese Patienten zwar mit 22,6 % häufiger ein BOS als die restlichen Patienten mit 17,2 %, jedoch war dies ebenfalls statistisch nicht signifikant ( $p=0,759$ ). Unter einem BOS Grad 3 litten 12,9 % der Patienten in der Hochrisikogruppe, im Vergleich zu 4,6 % der restlichen Patienten ( $P=0,254$ ).

### 3.2.5 Primäre Transplantatdysfunktion

Von den 37 Patienten, welche eine primäre Transplantatdysfunktion erlitten, entwickelten 7 Patienten (18,9 %) im Verlauf ein BOS. Dieses trat im Durchschnitt nach  $865 \pm 508$  Tagen auf. Im Vergleich dazu trat bei 15 der 82 (18,3 %) Patienten ohne primäre Transplantatdysfunktion ein BOS auf. Im Durchschnitt trat es nach  $825 \pm 389$  Tagen auf. Dies ist statistisch nicht signifikant ( $p=0,525$ ). In Bezug auf das Auftreten eines schweren BOS Grad 3 zeigte sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Bei 3 (8,1 %) der 37 Patienten mit PGD und bei 5 (6,1 %) der 82 Patienten ohne PGD entwickelte sich ein BOS Grad 3 ( $p=0,388$ ).



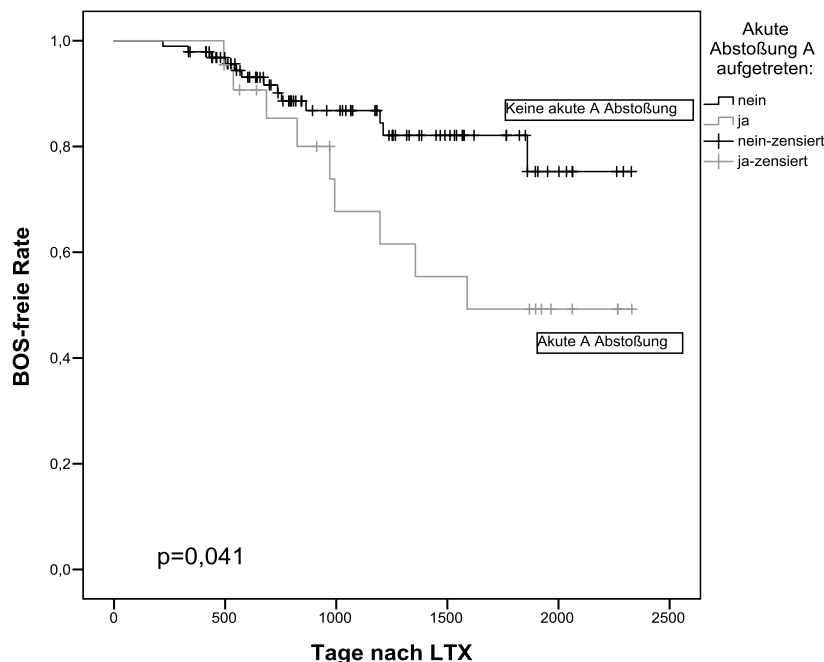
**Abbildung 23:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit des Auftretens der PGD. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. PGD: Primary Graft Dysfunction/Primäre Transplantatdysfunktion.



### 3.2.6 Akut zelluläre Abstoßung, A nach ISHLT

Neun der 22 Patienten (40,9 %), bei welchen eine akute zelluläre Abstoßung vom Typ A mittels Biopsie gesichert werden konnte, entwickelten im Verlauf ein BOS. Fünf (22,7 %) entwickelten ein BOS 3. In der restlichen Population hingegen litten nur 13 von 96 (13,5 %) unter einem BOS und nur 3 von 96 (3,1 %) unter einem BOS 3. Die Kaplan-Meier-Analysen ergab sowohl für BOS, als auch BOS 3 eine statistisch signifikante Relevanz ( $p=0,041$  für BOS und  $p=0,015$  für BOS 3).

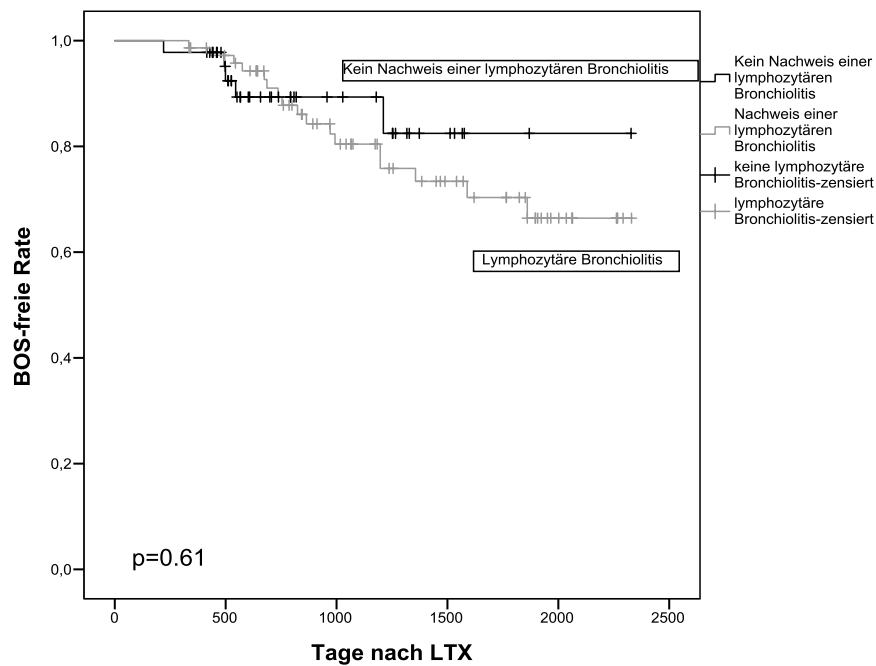
Die Zeit bis zum Auftreten des BOS war im Durchschnitt kürzer bei Patienten, welche keine akute zelluläre Abstoßungsreaktion erlitten. Wobei sich jedoch keine statistische Signifikanz zeigte ( $p=0,26$ ). Die mittlere Zeit bis zum Auftreten des BOS lag in der Population ohne Abstoßungsreaktion bei  $752 \pm 442$  Tagen und bei  $961 \pm 370$  Tagen bei Patienten mit einer Phase einer Abstoßungsreaktion. Für BOS 3 zeigte sich ein umgekehrtes Bild. So trat das BOS 3 bei Patienten mit akuter zellulären Abstoßung im Mittel schon nach  $969 \pm 241$  Tagen und bei Patienten ohne akuter Abstoßungsreaktion erst nach  $1271 \pm 370$  Tagen auf ( $p=0,21$ ).



**Abbildung 24:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit vom Auftreten akuter Abstoßungen A. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

### 3.2.7 Lymphozytäre Bronchiolitis, B nach ISHLT

Bei 5 der 45 Patienten (11,1 %) ohne Nachweis einer lymphozytären Bronchiolitis wurde ein BOS festgestellt, sowie bei 17 der 73 Patienten (23,3 %) mit lymphozytärer Bronchiolitis ( $p=0,61$ ). Von den 73 Patienten mit lymphozytärer Bronchiolitis haben 6 Patienten (8,2 %) ein BOS 3 entwickelt, von den 45 Patienten ohne lymphozytäre Bronchiolitis 2 Patienten (4,4 %)  $p=0,82$ ).



**Abbildung 25:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit vom Nachweis der lymphozytären Bronchiolitis. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

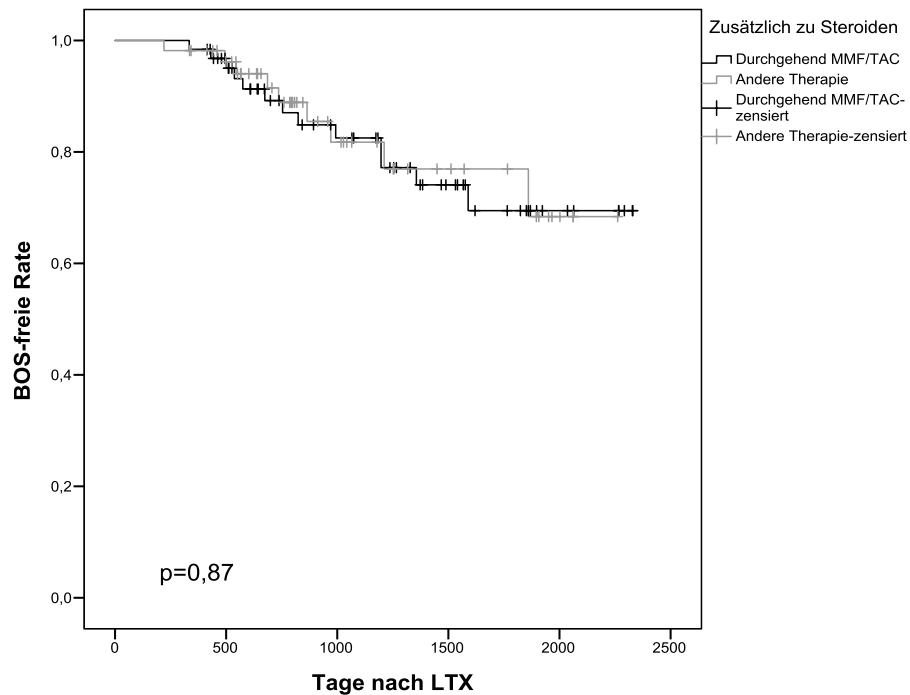
### 3.2.8 Immunsuppressive Erhaltungstherapie

In Beziehung zur immunsuppressiven Therapie zeigte sich ein ausgeglichenes Auftreten des BOS. So haben zwischen 15,6 % und 20,6 % der Patienten in Abhängigkeit der jeweiligen zugeordneten Gruppe ein BOS entwickelt. Eine genaue Übersicht findet sich in Tabelle 7.

**Tabelle 7:** Übersicht über die Verteilung des BOS und BOS 3 nach Einteilung der Population nach der erhaltenen immunsuppressiven Therapie (zusätzlich zu Steroiden).

<b>Immunsuppressionsschema (+Steroid)</b>	<b>Anzahl</b>	<b>BOS</b>	<b>BOS 3</b>
I:MMF, TAC	63	13 (20,6 %)	3 (4,8 %)
II:MMF intermittierend (>3 Monate)	45	7 (15,6 %)	4 (8,9 %)
III: Anderes Immunsuppressionsschema	10	2 (20,0 %)	1 (10,0 %)
Legende: MMF: Mycophenolat Mofetil. TAC: Tacrolimus. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.			

Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied für das BOS ( $p=0,77$  sowie für einzelnen Gruppenvergleiche  $p=0,79$ ,  $p=0,69$  und  $p=0,44$ ). In Gruppe I, welche durchgehend eine immunsuppressive Therapie mit MMF und Tacrolimus (neben Kortikosteroiden) erhalten hat, erkrankten 4,8 % der Patienten an einem BOS 3. In den anderen Gruppen 8,9 % und 10 %. Der Unterschied war jedoch ebenso wenig statistisch signifikant ( $p=0,44$  sowie für die einzelnen Gruppenvergleiche  $p=0,28$ ,  $p=0,24$  und  $p=0,62$ ). Fasst man Gruppe II und III zusammen und stellt sie der Gruppe von Patienten gegenüber, welche durchgehend MMF/Tacrolimus erhalten hat ergibt sich ebenso kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,872$ ) (siehe Abbildung 26).

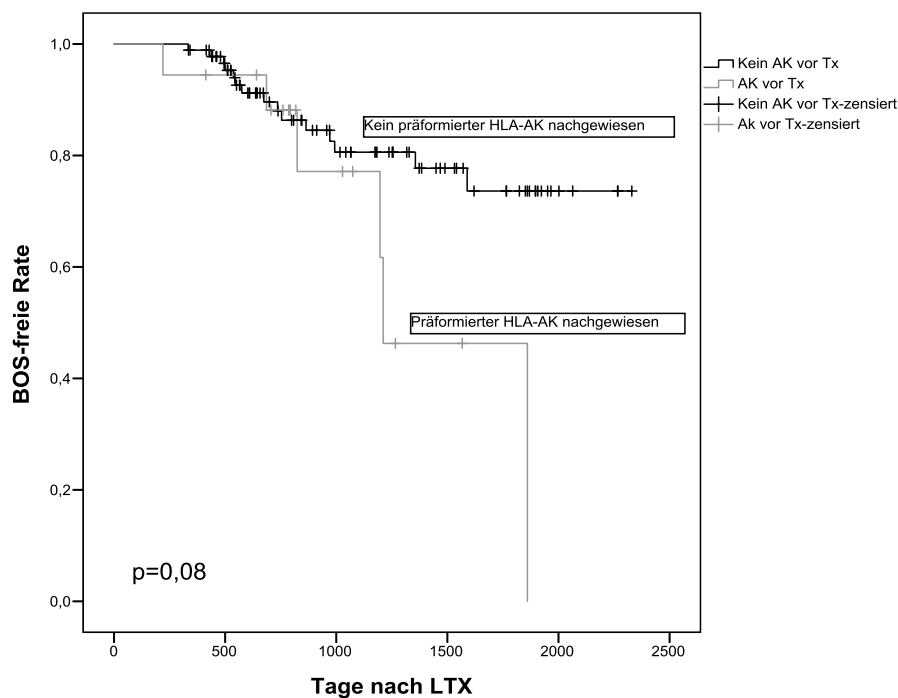


**Abbildung 26:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit der erhaltenen immunsuppressiven Therapie. In der Gruppe Andere Therapie befanden sich Patienten, welche ein anderes immunsuppressives Regime erhalten haben (z.B. Azathioprin statt MMF) sowie Patienten, bei welchen intermittierenden MMF (länger als 3 Monate) pausiert worden war. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. MMF: Mycophenolatmofetil, TAC: Tacrolimus.

### 3.2.9 HLA-Antikörper

#### 3.2.9.1 Präformierte Antikörper

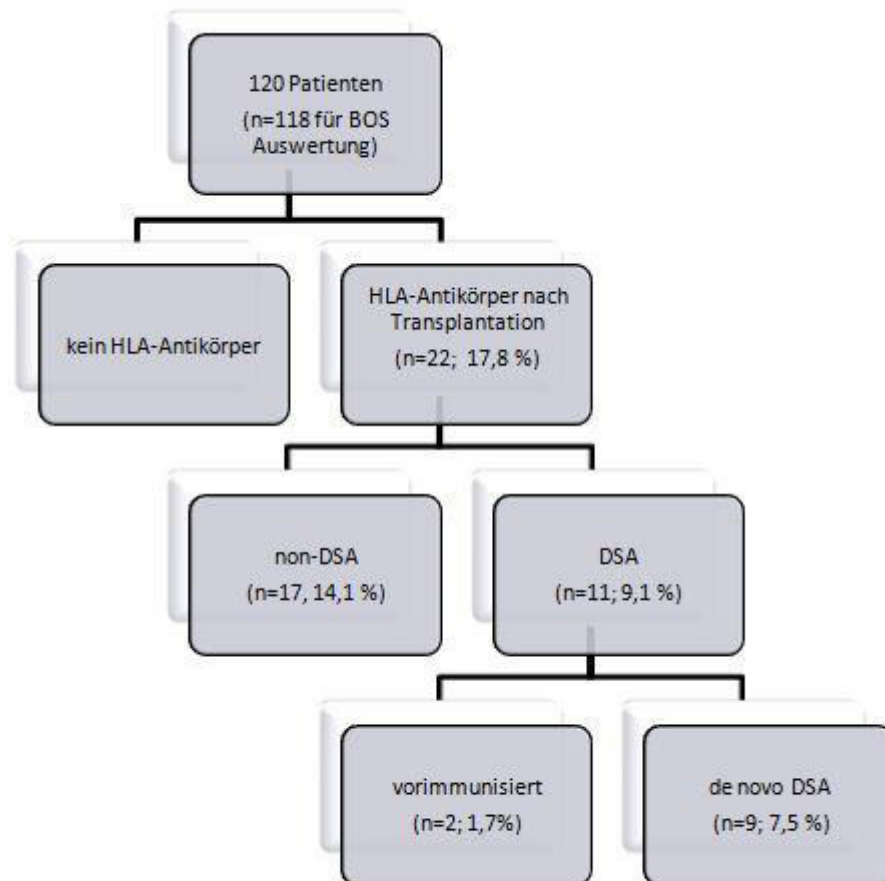
Von 111 Patienten mit verfügbaren Antikörpermessungen vor Transplantation wurden 109 in die Risikofaktorenanalyse hinsichtlich eines BOS eingeschlossen (1 Patient war innerhalb des ersten Jahres gestorben, 1 Patient hat unzureichende Lungenfunktionsdaten). Hiervon hatten 18 Patienten (16,5 %) präformierte HLA-Antikörper. Davon entwickelten 6 (31,6 %) ein BOS. Zwei (11,1 %) der Patienten mit präformierten Antikörpern litten unter einem BOS Grad 3. Im Vergleich dazu litten 15 (16,5 %) der 91 Patienten ohne präformierte HLA-Antikörper unter einem BOS sowie 6 (6,6 %) unter einem BOS 3. In der Kaplan-Meier-Analyse ergab sich ein statistischer Trend für eine verminderte Freiheit von BOS ( $p=0,08$  für BOS,  $p=0,47$  für BOS 3). Bei Patienten mit HLA-Antikörpern vor Transplantation trat das BOS nach durchschnittlich  $1000 \pm 559$  Tage auf. Patienten ohne HLA-Antikörper, vor Transplantation entwickelten das BOS im Mittel schon nach  $749 \pm 349$  Tagen ( $p=0,243$ ).



**Abbildung 27:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit präformierter HLA-Antikörper. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. AK: HLA-Antikörper.

### 3.2.9.2 HLA-Antikörper nach Transplantation

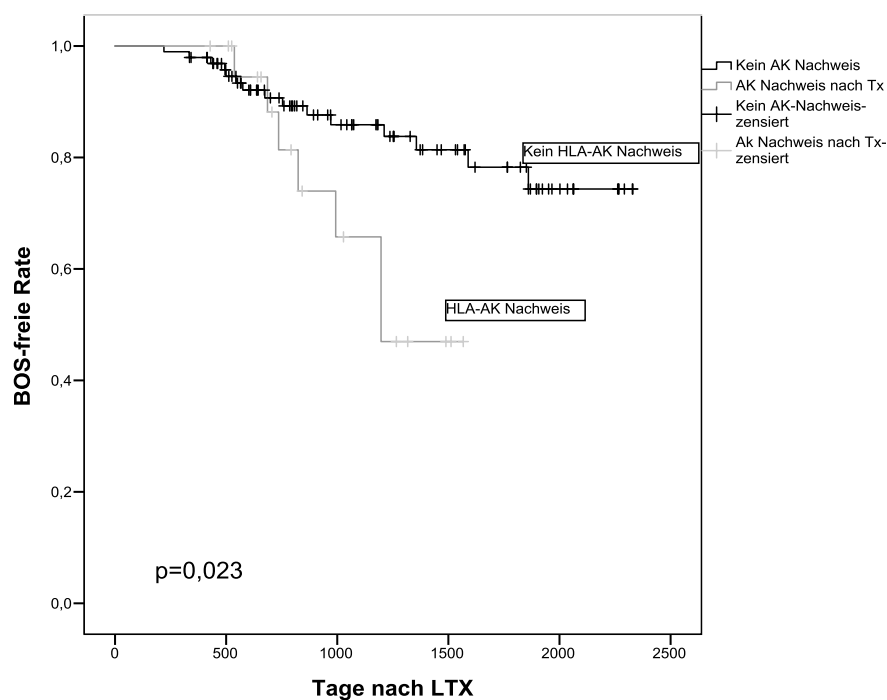
Aufgrund der Vielzahl verschiedener Arten von HLA-Antikörpern und der damit verbundenen Unübersichtlichkeit der Thematik ist in Abbildung 28 eine Übersicht über die nach Transplantation nachgewiesenen HLA-Antikörper dargestellt.



**Abbildung 28:** Übersicht über die nach Transplantation nachgewiesenen HLA-Antikörper. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. DSA: Spender-spezifischer HLA-Antikörper. Non-DSA: Nicht Spender-spezifischer HLA-Antikörper. *De novo* DSA: neu aufgetretener Spender-spezifischer HLA-Antikörper. Für die Auswertung in Zusammenhang mit dem BOS ist n auf 118 beschränkt, da bei einem Patienten keine ausreichenden Lungenfunktionsmessungen verfügbar waren und der andere bereits innerhalb der ersten 12 Monate nach Transplantation verstorben ist (Einschlusskriterium für die Auswertung bezüglich BOS: Überleben >12 Monate).

Von 22 Patienten (18,3 %), bei welchen ein HLA-Antikörper nach Transplantation nachgewiesen wurde, entwickelten 7 (30,0 %) ein BOS (n=21, da 1 Patient bereits innerhalb

des ersten Jahren nach Transplantation verstorben ist und demnach nach Studienprotokoll nicht in die BOS Auswertung eingeschlossen wurde). Im Vergleich dazu entwickelten 15 (15,5 %) der 97 Patienten ohne AK-Nachweis ein BOS (Chi-Quadrat Test  $p=0,057$ ). Für das BOS 3 zeigte sich eine noch größere Diskrepanz. So haben nur 4 (4,1 %) der AK-negativen und ebenso 4 (19,0 %) der AK-positiven Patienten ein BOS 3 entwickelt (Chi-Quadrat Test  $p=0,014$ ). Dabei ergaben die diesbezüglichen Kaplan-Meier-Analysen eine statistisch bedeutende Signifikanz mit einem p-Wert von 0,023 für das BOS und einem p-Wert von 0,007 für das BOS 3. In der folgenden Abbildung ist der Zusammenhang zum BOS veranschaulicht. Bei drei Patienten wurden die HLA-Antikörper vor dem Auftreten des BOS gemessen.



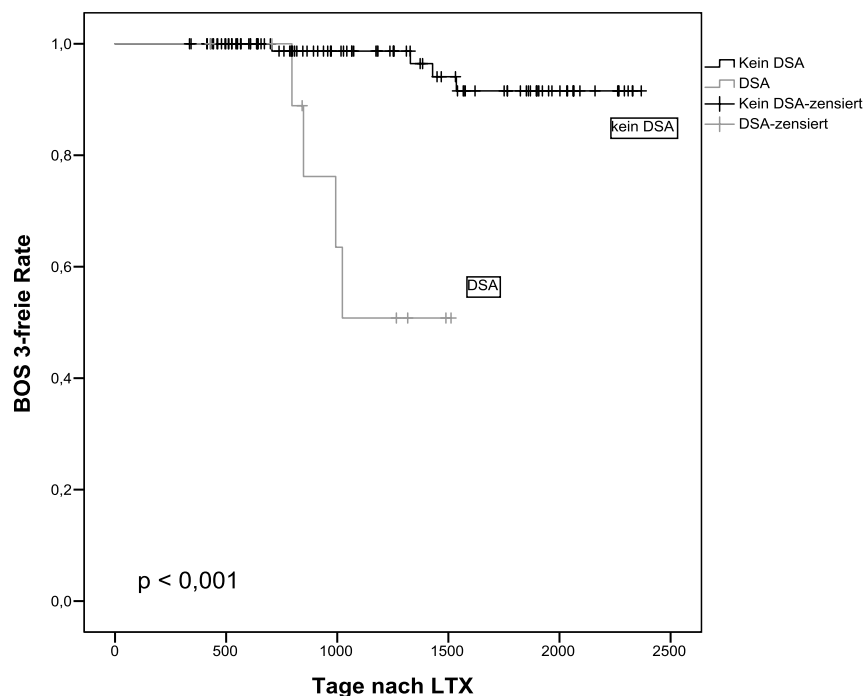
**Abbildung 29:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit vom HLA-AK Nachweis nach Transplantation. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.

Von den 10 Patienten mit HLA-I-AK wurden 9 Patienten in die Auswertung eingeschlossen und davon entwickelten drei (33,3 %) ein BOS und 2 (22,2 %) ein BOS 3. Von Patienten ohne derartige Antikörper entwickelten nur 19 (17,4 %) ein BOS und 6 (5,5 %) ein BOS 3 (Chi-Quadrat Test  $p=0,239$  für BOS und  $p=0,055$  für BOS 3). Statistisch zeigte sich in der Kaplan-Meier-Analyse ein Trend für das BOS 3 mit einem p-Wert von 0,063. Für das BOS zeigt sich keine bedeutende Signifikanz ( $p=0,218$ ). Aus der 16 Patienten umfassenden Gruppe mit

HLA-II-AK litten 5 (31,3 %) unter einem BOS und 2 (12,5 %) unter einem BOS 3. Statistisch ergab sich im Vergleich zu Patienten ohne diese AK ein Trend in der Kaplan-Meier-Analyse mit einem p-Wert von 0,098. Für BOS 3 ergab sich keine statistisch bedeutende Relevanz ( $p=0,194$ ). Von den 102 Patienten ohne HLA-II-AK litten 17 (16,7 %) bzw. 6 (5,9 %) unter einem BOS bzw. BOS 3.

Von den Patienten mit non-DSA entwickelten 5 (31,3 %) ein BOS und 2 (12,5 %) ein BOS 3. Von Patienten ohne non-DSA entwickelten 17 (16,7 %) ein BOS und 6 (5,9 %) ein BOS 3 (Kaplan-Meier-Analyse:  $p=0,13$  für BOS und  $p=0,32$  für BOS 3).

Von den 11 Patienten mit DSA entwickelten 4 (36,4 %) ein BOS. Alle 4 (36,4 %) hatten die schwere Form des BOS 3. Im Vergleich dazu litten in der Population ohne DSA 18 (16,8 %) bzw. 4 (3,7 %) an einem BOS bzw. BOS 3 (Kaplan-Meier-Analyse:  $p=0,087$  für BOS und  $p\leq 0,001$  für BOS 3) (siehe Abbildung Nr. 30). Die durchschnittliche Zeit bis zum Auftreten des BOS und BOS 3 lag in der Population mit DSA bei  $738 \pm 190$  Tagen bzw.  $915 \pm 110$  Tagen und bei  $860 \pm 455$  Tagen bzw.  $1250 \pm 372$  Tagen bei denjenigen ohne derartige Antikörper ( $p=0,80$  für BOS  $p=0,25$  für BOS 3).



**Abbildung 30:** BOS-3-freie Rate in Abhängigkeit vom Vorhandensein donor-spezifischer HLA-Antikörper (DSA). LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom.



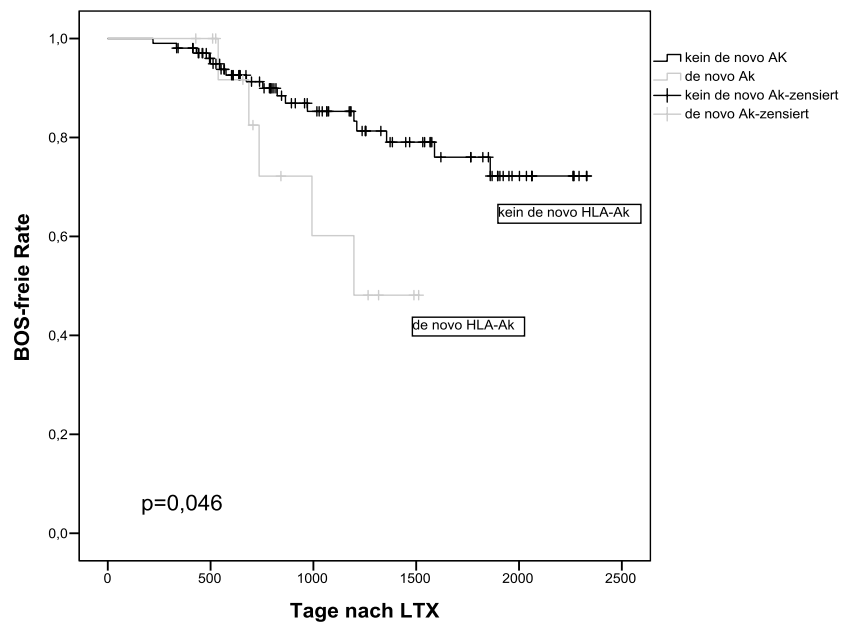
### 3.2.9.3 *De novo* HLA-Antikörper

#### *De novo* non-DSA

Von den 15 Patienten, welche einen *de novo* Antikörper entwickelten, litten im Verlauf 5 (33,3 %) an einem BOS und 4 (26,7 %) an einem BOS Grad 3. Bei Patienten, bei welchen keine *de novo* Antikörper nachgewiesen wurden hatten nur 17 (16,5 %) ein BOS und nur 4 (3,9 %) ein BOS 3. In der Kaplan-Meier-Analyse ergeben sich entsprechende signifikante Werte von  $p=0,046$  und  $p\leq 0,001$  für BOS. Im Mittel trat das BOS bzw. das BOS 3 bei Patienten mit *de novo* Antikörper auch früher als bei den anderen Patienten auf. So entwickelten Patienten mit BOS (bzw. BOS 3) und *de novo* Antikörper bereits nach durchschnittlich  $830 \pm 263$  Tagen ein BOS und nach  $915 \pm 110$  Tagen ein BOS 3. Patienten ohne Antikörper entwickelten durchschnittlich nach  $840 \pm 461$  Tagen ein BOS und nach  $1250 \pm 372$  Tagen ein BOS 3. Diesbezügliche Signifikanzen fanden sich jedoch nicht ( $p=0,96$  für BOS und  $p=0,13$  für BOS 3).

In der Subgruppe der Patienten mit *de novo* HLA-I-Antikörper litten 2 Patienten (50 %) unter einem BOS. Dies war zwar häufiger im Vergleich zu Patienten ohne diese Antikörper, von denen nur 17,5% unter einem BOS litten, jedoch nicht statistisch signifikant (Chi-Quadrat Test  $p=0,10$  und Kaplan-Meier-Analyse  $p=0,11$ ). In der Subgruppe von Patienten mit *de novo* HLA-II-Antikörper entwickelten 3 (27,3 %) ein BOS. Patienten ohne diesen litten nur in 17,8 % unter einem BOS (Chi-Quadrat Test  $p=0,44$  und  $p=0,20$ ).

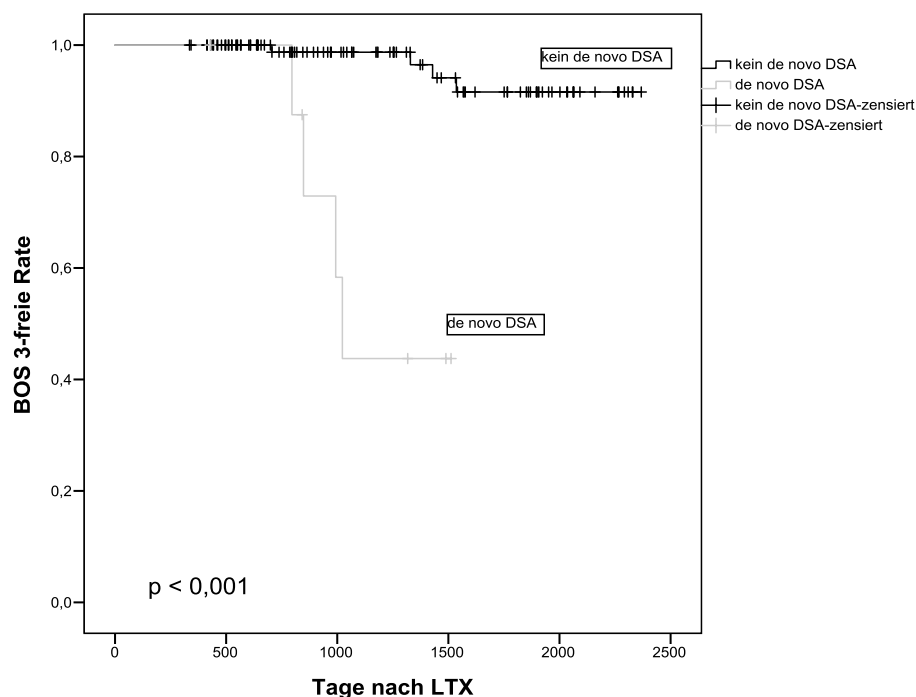
Von den 10 Patienten mit *de novo* non-DSA entwickelten 3 (33,3 %) ein BOS und 2 (20 %) ein BOS 3. Dies war häufiger als bei Patienten ohne *de novo* non-DSA, von denen 19 (17,6 %) ein BOS und 6 (5,6 %) ein BOS 3 entwickelten. Für BOS 3 zeigte sich in der Kaplan-Meier-Analyse eine statistisch bedeutende Signifikanz. ( $p=0,24$  für BOS und  $p=0,04$  für BOS 3).



**Abbildung 31:** BOS-freie Rate in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines *de novo* HLA-AK. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. AK: HLA-Antikörper.

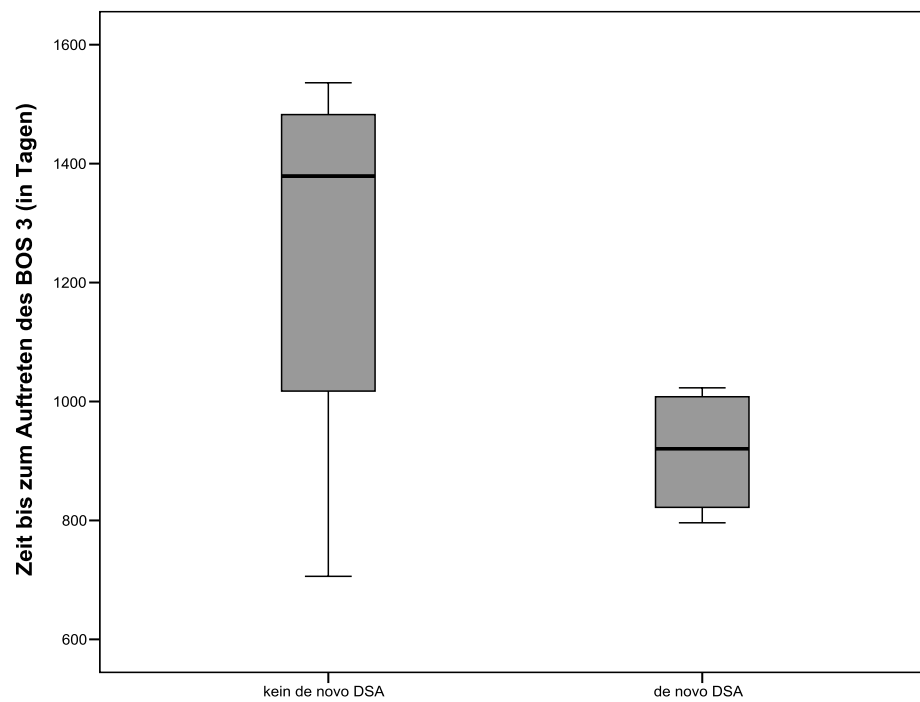
## De novo DSA

Von den 9 Patienten mit *de novo* DSA (d.h. von 7,6 % aller Patienten) entwickelten 4 (44,4 %) ein BOS und ebenso viele die schwere Form des BOS 3. Im Vergleich dazu litt in der Population ohne *de novo* DSA ein deutlich geringerer Anteil von nur 16,5 % bzw. 3,7 % an einem BOS bzw. BOS 3 (Chi-Quadrat Test für BOS  $p=0,039$  und  $p \leq 0,001$  für BOS 3). Das überdurchschnittlich häufige Auftreten in der Patientenpopulation mit *de novo* DSA war sowohl für BOS als auch BOS 3 in der Kaplan-Meier-Analyse statistisch signifikant ( $p=0,027$  für BOS und  $p \leq 0,001$  für BOS 3) (siehe Abbildung Nr. 32).



**Abbildung 32:** BOS-3-freie Rate in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines *de novo* DSA. LTX: Lungentransplantation. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. DSA: Donor-spezifischer HLA-Antikörper.

Die Zeit bis zum Auftreten des BOS bzw. BOS 3 war im Durchschnitt zwar kürzer als bei Patienten ohne *de novo* DSA Nachweis, wobei sich jedoch keine statistische Signifikanz zeigt ( $p=0,80$  für BOS  $p=0,25$  für BOS 3). Die mittlere Zeit bis zum Auftreten des BOS und BOS 3 lag in der Population mit *de novo* DSA bei  $738 \pm 190$  Tagen bzw.  $915 \pm 110$  Tagen und bei  $813 \pm 338$  Tagen bzw.  $1250 \pm 372$  Tagen bei denjenigen ohne derartige Antikörper. Für BOS 3 ist der Zusammenhang in Abbildung Nr. 33 veranschaulicht.



**Abbildung 33:** Zeitpunkt des Auftretens von BOS 3 im Vergleich zwischen Patienten mit und ohne *de novo* DSA. Dargestellt sind Median und Quartile. Ausreißer oder Extremwerte sind nicht zu sehen. BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. DSA: Donor-spezifischer HLA-Antikörper.

### 3.3 Multivariate Cox Regressionsanalyse

Auf Basis der Kaplan-Meier-Analysen erfolgte eine multivariate Cox-Regression um die Unabhängigkeit und die Bedeutung der potenziellen Risikofaktoren besser zu analysieren. In diese wurden alle Merkmale eingeschlossen, welche sich durch ein  $p \leq 0,1$  in den bisherigen univariaten Berechnungen kennzeichneten, sowie das Alter und das Geschlecht des Organempfängers.

#### 3.3.1 Multivariate Analyse für BOS

In der Analyse ergaben sich nur *de novo* DSA sowie der CMV-Status des Spenders als unabhängige Risikofaktoren. Die eingeschlossenen potenziellen Risikofaktoren waren: Alter, Geschlecht, akut zelluläre Abstoßung (ISHLT Typ A), CMV-Status Spender, CMV-Risikogruppe, präformierter HLA-Antikörper, non-DSA Nachweis vor Transplantation, HLA-Antikörperrnachweis nach Transplantation, Nachweis eines HLA-II-Antikörper nach Transplantation, DSA Nachweis nach Transplantation, *de novo* HLA-AK nach Transplantation, *de novo* DSA Nachweis nach Transplantation.

**Tabelle 8:** Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse für das BOS.

	Signifikanz	Hazard Ratio	Konfidenzintervall (95 %)
<i>de novo</i> DSA	0,019	3,8	1,3-11,9
CMV-Spenderstatus	0,018	3,7	1,3-11,2

Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. *De novo* DSA: „neu“ aufgetretene Spender-spezifische HLA-Antikörper. CMV: Cytomegalie-Virus.

Wie in der Tabelle Nr. 8 zu sehen ist, ergab die Analyse, dass sowohl das Auftreten von *de novo* DSA als auch ein CMV-positiver Status des Spenders mit einem deutlich erhöhten Hazard Ratio einhergehen.

#### 3.3.2 Multivariate Analyse für BOS 3

Im Rahmen der Analyse bezüglich der Risikofaktoren für das BOS 3 setzten sich die Ergebnisse, welche sich bereits bei der Analyse bezüglich des BOS gezeigt haben, fort. Alter, Geschlecht, akut zelluläre Abstoßung (ISHLT Typ A), CMV-Status Spender, non-DSA Nachweis vor Transplantation, HLA-Antikörperrnachweis nach Transplantation, DSA

Nachweis nach Transplantation, *de novo* HLA-AK nach Transplantation, *de novo* non-DSA  
 Nachweis nach Transplantation, *de novo* DSA Nachweis nach Transplantation.

**Tabelle 9:** Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse für das BOS 3.

	Signifikanz	Hazard Ratio	Konfidenzintervall (95 %)
<i>de novo</i> DSA	$\leq 0,001$	35,4	5,6-222,2
CMV-Spenderstatus	0,040	11,0	1,1-108,3

Legende: BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom. *De novo* DSA: „neu“ aufgetretene Spender spezifische HLA-Antikörper. CMV: Cytomegalie-Virus.

Dabei zeigte sich sowohl für das Auftreten von *de novo* DSA sowie den CMV-Status des Spenders ein nochmals erhöhtes Hazard Ratio für das BOS 3 im Vergleich zu BOS.

### 3.4 Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper

#### 3.4.1 HLA-Antikörper nach Transplantation

In Tabelle 10 und 11 finden sich Übersichten über die Verteilung der Merkmale zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper nach Transplantation. Dabei zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in den vorhandenen Daten. Die lymphozytäre Bronchiolitis konnte bei Patienten mit HLA-Antikörper in nur 45,5 % der Fälle nachgewiesen werden. Bei Patienten ohne HLA-Antikörper wurde diese bei 65,3 % nachgewiesen. Statistisch zeigte sich diesbezüglich ein grenzwertiger Trend mit einem p-Wert von 0,095.

**Tabelle 10:** Übersicht I über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Signifikanz.

	Kein HLA-Antikörper	HLA-Antikörper	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht			0,354
Männlich	47 (48,0 %)	8 (36,4 %)	
Weiblich	51 (52,0 %)	14 (63,6 %)	
Transplantationsart			0,792
SLTX	27 (27,6 %)	5 (22,7 %)	
DLTX	71 (72,4 %)	17 (77,3 %)	
Cystische Fibrose			1,0
ja	19 (19,4 %)	4 (18,2 %)	
nein	79 (80,6 %)	18 (81,8 %)	
Immunsuppression			0,986
TAC/MMF	53 (54,1 %)	12 (54,5 %)	
TAC u. MMF (>3 Monate Pause)	37 (37,8 %)	8 (36,4 %)	
Andere Therapie (z.B. Azathioprin)	8 (8,2 %)	2 (9,1 %)	
PGD			0,80
nein	68 (69,4 %)	14 (66,7 %)	
ja	30 (30,6 %)	7 (33,3 %)	
CMV-Status Empfänger			1,0
negativ	55 (56,1 %)	12 (54,5 %)	
positiv	13 (43,9 %)	10 (45,5 %)	
CMV-Status Spender			0,481
negativ	50 (51,0 %)	9 (40,9 %)	
positiv	48 (49,0 %)	13 (59,1 %)	
Abstoßungen A			0,367
nein	81 (82,7 %)	12 (72,7 %)	
ja	17 (17,3 %)	3 (27,3 %)	
Lymphozytäre Bronchiolitis			0,095
nein	34 (34,7 %)	12 (54,5 %)	
ja	64 (65,3 %)	10 (45,5 %)	
Organüberleben			1,0
nicht verstorben	83 (84,7 %)	19 (86,4 %)	
verstorben	15 (15,3 %)	3 (13,6 %)	

Legende: HLA: Humanes Leukozyten Antigensystem. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation. TAC: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat Mofetil. PGD: Primäre Transplantat Dysfunktion. CMV: Cytomegalie-Virus.

**Tabelle 11:** Übersicht II über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Angabe der Signifikanz. SD: Standardabweichung.

	Kein HLA-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	HLA-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Transplantation	47,3 $\pm$ 12,5 Jahre	44,5 $\pm$ 13,0 Jahre	0,335
Alter des Spenders	41,2 $\pm$ 13,9 Jahre	37,3 $\pm$ 14,6 Jahre	0,260
Ischämiezeit	466 $\pm$ 134 Minuten	477 $\pm$ 142 Minuten	0,712
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesenen A Abstoßungen	0,2 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,8	0,238
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesener lymphozytärer Bronchiolitis	1,2 $\pm$ 1,5	0,9 $\pm$ 1,3	0,129



## **HLA-I-Antikörper nach Transplantation**

Patienten mit und ohne HLA-I-Antikörper unterschieden sich im Vergleich (siehe Tabellen 12 und 13) in unserer Analyse nicht signifikant. Wobei jedoch ein statistischer Trend mit einem p-Wert von 0,06 in Bezug auf das Alter des Spenders in Erscheinung tritt. So sind die Organspender der Patienten, bei welchen ein HLA-I-AK nach Transplantation detektiert werden konnte, im Durchschnitt ca. 10 Jahre jünger als bei Patienten ohne diese Antikörper.

**Tabelle 12:** Übersicht I über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-I-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Signifikanz.

	Kein HLA-I-AK	HLA-I-AK	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht			0,107
Männlich	53 (48,2 %)	2 (66,7 %)	
Weiblich	57 (51,8 %)	8 (33,3 %)	
Transplantationsart			0,286
SLTX	31 (28,2%)	1 (10,0 %)	
DLTX	79 (71,8%)	9 (90,0 %)	
Cystische Fibrose			0,685
ja	22 (20,0 %)	1 (10,0 %)	
nein	88 (80,0 %)	9 (90,0 %)	
Immunsuppression			1,0
TAC/MMF	59 (53,6 %)	6 (60,0 %)	
TAC u. MMF (>3 Monate Pause)	41 (37,3 %)	4 (40,0 %)	
Andere Therapie (z.B. Azathioprin)	10 (9,1 %)	0	
PGD			0,282
nein	77 (70,6 %)	5 (50,0 %)	
ja	32 (29,4 %)	5 (50,0 %)	
CMV-Status Empfänger			1,0
negativ	61 (55,5 %)	6 (60,0 %)	
positiv	49 (44,5 %)	4 (40,0 %)	
CMV-Status Spender			0,323
negativ	56 (50,9 %)	3 (30,0 %)	
positiv	54 (49,1 %)	7 (70,0 %)	
Abstoßungen A			0,402
nein	90 (81,8 %)	7 (70,0 %)	
ja	20 (18,2 %)	3 (30,0 %)	
Lymphozytäre Bronchiolitis			0,504
nein	41 (37,3 %)	5 (50,0 %)	
ja	69 (62,7 %)	5 (50,0 %)	
Organüberleben			0,645
nicht verstorben	94 (85,5 %)	8 (80,0 %)	
verstorben	16 (14,5 %)	2 (20,0 %)	

Legende: HLA: Humanes Leukozyten Antigensystem. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation. TAC: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat Mofetil. PGD: Primäre Transplantat Dysfunktion. CMV: Cytomegalie-Virus.

**Tabelle 13:** Übersicht II über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-I-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Angabe der Signifikanz. SD: Standardabweichung.

	Kein HLA-I-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	HLA-I-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Transplantation	47,0 $\pm$ 12,8 Jahre	44,8 $\pm$ 9,9 Jahre	0,608
Alter des Spenders	41,5 $\pm$ 13,7 Jahre	31,4 $\pm$ 15,0 Jahre	0,06
Ischämiezeit	463 $\pm$ 135 Minuten	519 $\pm$ 138 Minuten	0,211
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesenen A Abstoßungen	0,2 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 1,0	0,318
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesener lymphozytärer Bronchiolitis	1,2 $\pm$ 1,4	1,3 $\pm$ 1,8	0,856

## **HLA-II-Antikörper nach Transplantation**

Patienten mit HLA-II-Antikörper nach Transplantation hatten im Durchschnitt signifikant weniger Episoden einer lymphozytären Bronchiolitis als Patienten ohne diese Antikörper ( $p=0,035$ ). Im Durchschnitt erfolgten in der Gruppe ohne HLA-II-Antikörper 1,3 Episoden einer lymphozytären Bronchiolitis. Bei Patienten mit HLA-II-Antikörpern traten im Durchschnitt nur 0,6 Episoden auf. Ebenso zeigte sich ein statistischer Trend dafür, dass bei Patienten mit HLA-II-Antikörpern seltener eine lymphozytäre Bronchiolitis nachgewiesen wurde. So konnte bei 64,4 % der Patienten ohne HLA-II-Antikörper und nur bei 37,5% der Patienten mit HLA-II-Antikörper eine lymphozytäre Bronchiolitis bioptisch nachgewiesen werden ( $p=0,051$ ).

**Tabelle 14:** Übersicht I über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-II-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Signifikanz.

	Kein HLA-II-AK	HLA-II-AK	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht			0,593
Männlich	49 (47,1 %)	6 (37,5 %)	
Weiblich	55 (52,9 %)	10 (62,5 %)	
Transplantationsart			1,0
SLTX	28 (26,9 %)	4 (25,0 %)	
DLTX	76 (73,1 %)	12 (75,0 %)	
Cystische Fibrose			1,0
ja	20 (19,2 %)	3 (18,8 %)	
nein	84 (80,8 %)	13 (81,2 %)	
Immunsuppression			0,712
TAC/MMF	56 (53,8 %)	9 (56,3 %)	
TAC u. MMF (>3 Monate Pause)	40 (38,5 %)	5 (31,3 %)	
Andere Therapie (z.B. Azathioprin)	8 (7,7 %)	2 (12,5 %)	
PGD			0,387
nein	70 (67,3 %)	12 (80,0 %)	
ja	34 (32,7 %)	3 (20,0 %)	
CMV-Status Empfänger			0,601
negativ	57 (54,8 %)	10 (62,5 %)	
positiv	47 (45,2 %)	6 (37,5 %)	
CMV-Status Spender			0,790
negativ	52 (50,0 %)	7 (43,7 %)	
positiv	52 (50,0 %)	9 (56,3 %)	
Abstoßungen A			0,506
nein	85 (81,8 %)	12 (75,0 %)	
ja	19 (18,2 %)	4 (25,0 %)	
Lymphozytäre Bronchiolitis			0,051
nein	36 (34,6 %)	10 (62,5 %)	
ja	68 (65,4 %)	6 (37,5 %)	
Organüberleben			0,461
nicht verstorben	87 (83,7 %)	15 (93,8 %)	
verstorben	17 (16,3 %)	1 (6,3 %)	

Legende: HLA: Humanes Leukozyten Antigensystem. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation. TAC: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat Mofetil. PGD: Primäre Transplantat Dysfunktion. CMV: Cytomegalie-Virus.

**Tabelle 15:** Übersicht II über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HLA-II- Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Angabe der Signifikanz. SD: Standardabweichung.

	Kein HLA-II-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	HLA-II-Antikörper (Mittelwert $\pm$ SD)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Transplantation	47,1 $\pm$ 12,4 Jahre	45,0 $\pm$ 13,7 Jahre	0,550
Alter des Spenders	40,9 $\pm$ 14,1 Jahre	38,2 $\pm$ 14,3 Jahre	0,515
Ischämiezeit	470 $\pm$ 137 Minuten	451 $\pm$ 125 Minuten	0,602
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesenen A Abstoßungen	0,2 $\pm$ 0,5	0,3 $\pm$ 0,6	0,505
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesener lymphozytärer Bronchiolitis	1,3 $\pm$ 1,5	0,6 $\pm$ 0,9	0,036

### **3.4.2 *De novo* HLA-Antikörper**

Zwischen Patienten mit und ohne *de novo* HLA-Antikörper konnten in der Studie keine signifikanten Unterschiede identifiziert werden. In den Tabellen Nr. 16 und Nr. 17 findet sich eine ausführlichere Darstellung mit Verteilung der wichtigsten Parameter und dem entsprechenden Signifikanzniveau.

**Tabelle 16:** Übersicht I über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne *de novo* HLA-Antikörper Nachweis nach Transplantation mit entsprechender Signifikanz.

	Kein <i>de novo</i> HLA-Antikörper	<i>de novo</i> HLA- Antikörper	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht			0,588
Männlich	47 (44,8 %)	8 (53,3 %)	
Weiblich	58 (55,2 %)	7 (47,7 %)	
Transplantationsart			0,757
SLTX	29 (27,6 %)	3 (20,0 %)	
DLTX	76 (72,6 %)	12 (80,0 %)	
Cystische Fibrose			0,484
ja	19 (18,1 %)	4 (26,7 %)	
nein	86 (81,9 %)	11 (73,3 %)	
Immunsuppression			0,764
TAC/MMF	57 (54,3 %)	8 (53,3 %)	
TAC u. MMF (>3 Monate Pause)	40 (38,1 %)	5 (33,3 %)	
Andere Therapie (z.B. Azathioprin)	8 (7,6 %)	2 (13,3 %)	
PGD			0,761
nein	73 (69,5 %)	9 (64,3 %)	
ja	32 (30,5 %)	5 (35,7 %)	
CMV-Status Empfänger			0,524
negativ	59 (56,2 %)	8 (53,3 %)	
positiv	46 (43,8 %)	7 (46,7 %)	
CMV-Status Spender			0,788
negativ	51 (48,6 %)	8 (53,3 %)	
positiv	54 (51,4 %)	7 (46,7 %)	
Abstoßungen A			1,0
nein	85 (81,8 %)	12 (80,0 %)	
ja	20 (19,0 %)	3 (20,0 %)	
Lymphozytäre Bronchiolitis			0,258
nein	38 (36,2 %)	8 (53,3 %)	
ja	67 (63,8 %)	7 (46,7 %)	
Organüberleben			1,0
nicht verstorben	89 (84,8 %)	13 (86,7 %)	
verstorben	16 (15,2 %)	2 (13,3 %)	

Legende: HLA: Humanes Leukozyten Antigensystem. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation. TAC: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat Mofetil. PGD: Primäre Transplantat Dysfunktion. CMV: Cytomegalie-Virus.



**Tabelle 17:** Übersicht II über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne *de novo* Antikörper mit entsprechender Angabe der Signifikanz. SD: Standardabweichung.

	Kein <i>de novo</i> AK (Mittelwert $\pm$ SD)	<i>de novo</i> AK (Mittelwert $\pm$ SD)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Transplantation	47,4 $\pm$ 12,2 Jahre	42,5 $\pm$ 14,7 Jahre	0,162
Alter des Spenders	41,2 $\pm$ 14,1 Jahre	35,5 $\pm$ 14,7 Jahre	0,175
Ischämiezeit	467 $\pm$ 137 Minuten	470 $\pm$ 130 Minuten	0,936
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesenen A Abstoßungen	0,2 $\pm$ 0,5	0,3 $\pm$ 0,8	0,866
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesener lymphozytärer Bronchiolitis	1,2 $\pm$ 1,5	0,9 $\pm$ 1,4	0,289

### 3.4.3 *De novo* DSA

Im Rahmen der Auswertung bezüglich der Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne *de novo* DSA ergaben sich zwei Auffälligkeiten. So waren die Patienten mit *de novo* DSA im Durchschnitt ca. 10 Jahre jünger als Patienten ohne *de novo* DSA ( $38,7 \pm 15,9$  Jahre vs.  $47,5 \pm 12,1$  Jahre;  $p=0,060$ ) und eine Cystische Fibrose war häufiger die Indikation zur Transplantation bei Patienten mit *de novo* DSA als bei Patienten ohne *de novo* DSA. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p=0,067$ ). 44,4 % der Patienten mit *de novo* DSA erhielten die Lungentransplantation aufgrund einer Cystischen Fibrose. Im Gegensatz zu 17,1% der Patienten ohne *de novo* DSA. Weitere relevante Unterschiede zeigten sich im Vergleich nicht.

**Tabelle 18:** Übersicht I über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne *de novo* DSA mit entsprechender Signifikanz.

	Kein <i>de novo</i> DSA	<i>de novo</i> DSA	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht			0,298
Männlich	49 (44,1 %)	6 (66,7 %)	
Weiblich	62 (55,9 %)	3 (33,3 %)	
Transplantationsart			0,442
SLTX	31 (27,9 %)	1 (11,1 %)	
DLTX	80 (72,1 %)	8 (88,9 %)	
Cystische Fibrose			0,067
ja	19 (17,1 %)	4 (44,4 %)	
nein	92 (82,9 %)	5 (55,6 %)	
Immunsuppression			0,246
TAC/MMF	60 (54,1 %)	5 (55,6 %)	
TAC u. MMF (>3 Monate Pause)	43 (38,7 %)	2 (22,2 %)	
Andere Therapie (z.B. Azathioprin)	8 (7,2 %)	2 (22,2 %)	
PGD			0,719
nein	75 (68,2 %)	7 (77,8 %)	
ja	35 (31,8 %)	2 (22,2 %)	
CMV-Status Empfänger			1,0
negativ	62 (55,9 %)	5 (55,6 %)	
positiv	49 (44,1 %)	4 (44,4 %)	
CMV-Status Spender			1,0
negativ	55 (49,5 %)	4 (44,4 %)	
positiv	56 (50,5 %)	5 (55,6 %)	
Abstoßungen A			0,371
nein	91 (82,0 %)	6 (66,6 %)	
ja	20 (18,0 %)	3 (33,3 %)	
Lymphozytäre Bronchiolitis			1,0
nein	43 (38,7 %)	6 (66,6 %)	
ja	68 (61,3 %)	3 (33,3 %)	
Organüberleben			0,623
nicht verstorben	95 (85,6 %)	7 (77,8 %)	
verstorben	16 (14,4 %)	2 (22,2 %)	

Legende: HLA: Humanes Leukozyten Antigensystem. SLTX: Einseitige Lungentransplantation. DLTX: Doppelseitige Lungentransplantation. TAC: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat Mofetil. PGD: Primäre Transplantat Dysfunktion. CMV: Cytomegalie-Virus.

**Tabelle 19:** Übersicht II über die Merkmalsverteilung und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne *de novo* DSA mit entsprechender Angabe der Signifikanz. SD: Standardabweichung.

	Kein <i>de novo</i> DSA (Mittelwert $\pm$ SD)	<i>de novo</i> DSA (Mittelwert $\pm$ SD)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Transplantation	47,5 $\pm$ 12,1 Jahre	38,7 $\pm$ 15,9 Jahre	0,060
Alter des Spenders	41,0 $\pm$ 13,8 Jahre	34,5 $\pm$ 17,3 Jahre	0,211
Ischämiezeit	471 $\pm$ 136 Minuten	427 $\pm$ 119 Minuten	0,350
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesenen A Abstoßungen	0,2 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 1,0	0,8442
Anzahl der Biopsien mit nachgewiesener lymphozytärer Bronchiolitis	1,2 $\pm$ 1,4	1,3 $\pm$ 1,7	0,248

## 4. Diskussion

### 4.1 Risikofaktoren für das Bronchiolitis obliterans Syndrom

Die Ergebnisse der durchgeführten Studie zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen verschiedenen Formen von HLA-Antikörpern und dem Bronchiolitis obliterans Syndrom auf. Insbesondere *de novo* DSA sowie der CMV-Status des Spenders konnten in einem multivariaten Modell als unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten von BOS und insbesondere für die schwerste Form, das BOS 3 identifiziert werden.

In dem untersuchten Kollektiv entwickelten insgesamt 18,7 % der Patienten ein BOS bei einer durchschnittlichen Beobachtungszeit von 3,3 Jahren. Von den Patienten mit einer Beobachtungszeit von mindestens 3 Jahren entwickelten 17,1 % ein BOS innerhalb der ersten drei Jahre. Dies ist ein relativ geringer Anteil im Vergleich mit der Literatur. So entwickelten in der Studie von Moffatt et al. 36 % der Patienten ein BOS nach drei Jahren.[102]

9 der 120 Patienten (7,5 %) entwickelten *de novo* DSA. Die Assoziation zwischen *de novo* DSA und BOS/BOS 3 ist im Vergleich zu anderen HLA-Antikörpern am stärksten ausgeprägt ( $p=0,027$  und  $p<0,001$ ) und stellt in Kombination mit der multivariaten Cox-Regressionsanalyse, bei der *de novo* DSA als unabhängiger Risikofaktor identifiziert werden konnte, das Kernergebnis der Studie dar.

Die hier vorliegende Studie hebt sich insbesondere durch die Kombination aus der verwendeten sensitiven Antikörperdetektionstechnik, der immunsuppressiven Erhaltungstherapie und einer umfangreichen statistischen Auswertung von anderen Studien ab. Maßgebliche Unterschiede waren:

I) Immunsuppression: Tacrolimus/MMF/Steroid vs. Ciclosporin/Azathioprin/Steroid (in den meisten anderen Studien)

II) Detektionstechnik: Luminex®-Assay vs. andere Technik (in den meisten Studien)

III) Definition der Antikörper-/Donorpositivität: MFI > 3000 vs. andere Definitionen (z.B. MFI >1000)

IV) Auswertung: Multivariate Analyse vs. univariate Analysen (in den meisten anderen Studien).

Der Anteil der Patienten, bei welchen *de novo* DSA identifiziert werden konnte, variiert teilweise erheblich. So haben Palmer et al. mittels Durchflusszytometrie bei 10 % der Patienten *de novo* DSA detektiert.[103] Hachem et al. identifizierten hingegen bei 56 % der Patienten *de novo* DSA.[104] Diese Forschungsgruppe hat jedoch zum einen eine andere Definition von Antikörperpositivität angewandt, zum anderen eine sehr engmaschige Antikörpertestungen durchgeführt (alle 3 Monate). In der Studie von Lobo et al. wurden die Seren ebenfalls mittels Luminex®-Assay untersucht.[105] Bei 29,5 % der 44 Patienten stellten sie einen *de novo* DSA mit einer MFI von mind. 1000 fest. Diese Antikörper waren signifikant mit dem BOS assoziiert, eine multivariate Analyse erfolgte in ihrer Studie jedoch nicht. Safavi et al. konnten ebenso wie die hier vorliegende Studie *de novo* DSA als unabhängigen Risikofaktor für das BOS identifizieren.[106] Zur Detektion der Antikörper kam in ihrer Studie ebenso der Luminex®-Assay zum Einsatz. Jedoch definierte die Gruppe Antikörperpositivität nicht alleinig anhand der MFI, sondern in Zusammenschau mehrerer Faktoren. Das Hazard ratio ist mit 2,3 in ihrer Studie etwas niedriger als in der vorliegenden Studie mit 3,8 Ähnliche Ergebnisse hat auch eine andere Gruppe.[107] In der bereits angesprochenen Studie von Lobo et al. erhielten die Patienten ebenso wie in der hier vorliegenden Studie eine immunsuppressive Erhaltungstherapie aus einem Steroid, MMF und Tacrolimus.[105] Dies sind bislang die beiden einzigen Studien, welche eine Assoziation von *de novo* DSA nach Lungentransplantation in einer Population beschreiben, welche hauptsächlich eine immunsuppressive Erhaltungstherapie aus einem Steroid, MMF und Tacrolimus erhalten hat. Paantjens et al. fanden ursprünglich in einer Patientenpopulation mit dieser immunsuppressiven Therapie keinen Zusammenhang zwischen HLA-Antikörpern und dem BOS.[92, 93] In deren Studien erfolgte jedoch keine Differenzierung bezüglich Spender-Spezifität. Ob MMF einen positiven Effekt auf eine verminderte *de novo* DSA Produktion besitzt ist aktuell unklar, möglicherweise besteht ein gering positiver Effekt.[108]

In den Subgruppen der Patienten mit non-DSA / *de novo* non-DSA finden sich im Vergleich zum Restkollektiv nicht signifikant häufiger Patienten, welche an einem BOS leiden. *De novo* non-DSA sind hingegen in dieser Studie mit dem BOS 3 assoziiert ( $p=0,04$ ). Lobo et al. stellten in ihrer Studie einen statistischen Trend für das häufigere Auftreten des BOS in der non-DSA Gruppe fest ( $p=0,069$ ).[105] Die vorhandene Studienlage ist diesbezüglich deutlich

eingeschränkter als in anderen Bereichen der Antikörperforschung. So wird zwar vor allem in den neueren und aufwändigeren Studien zwischen DSA und non-DSA differenziert, Assoziationen zwischen non-DSA mit dem BOS jedoch nicht beschrieben.[104, 106] Daraus kann man vermutlich schlussfolgern, dass die entsprechenden Gruppen keine signifikanten Zusammenhänge zum BOS gefunden haben. Wenn man das Ergebnis der signifikanten Assoziation von *de novo* non-DSA mit dem BOS 3 vor dem Hintergrund der bestehenden Literatur interpretiert, kann man vermuten, dass wahrscheinlich eine Assoziation zwischen *de novo* non-DSA und dem BOS / BOS 3 besteht. Diese scheint im Vergleich zu *de novo* DSA jedoch deutlich geringer ausgeprägt zu sein.

In dem hier untersuchten Kollektiv folgte dem Nachweis eines HLA-Antikörpers vor Transplantation keine erhöhte Wahrscheinlichkeit später ein BOS zu entwickeln. Wobei sich statistisch jedoch ein Trend mit einem p-Wert von 0,08 zeigt. Eine Erfassung klinischer Daten zur Entstehung der Antikörper erfolgte im Rahmen der hier vorliegenden Studie nicht (z.B. vorausgegangene Schwangerschaften, Bluttransfusionen). Im Vergleich zu den hier vorliegenden Studienergebnissen haben Lyu et al. in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen präformierten Antikörpern und dem häufigeren Auftreten des BOS finden können.[109] Eine andere Forschungsgruppe konnte eine Korrelation zwischen präformierten HLA-II-Antikörpern und einer geringeren Freiheit von BOS sowie einem geringeren Überleben feststellen.[110] Smith et al. fanden wiederum einen Zusammenhang zwischen präformierten DSA und einer geringeren Überlebenswahrscheinlichkeit nach einem Jahr.[111] Die Diskrepanz der Ergebnisse ist vermutlich auf die geringe Anzahl der Patienten mit präformierten Antikörpern und der damit einhergehenden geringeren Teststärke der vorliegenden Studie zurückzuführen.

Der Nachweis eines HLA-Antikörpers nach Transplantation ist statistisch signifikant an eine verminderte Freiheit von BOS bzw. BOS 3 assoziiert ( $p=0,023$  und  $p=0,007$ ). Übereinstimmend mit den eigenen Daten kamen verschiedene andere Forschungsgruppen zu ähnlichen Ergebnissen, wobei sich die verschiedenen Studiendesigns zum Teil erheblich unterscheiden.[112-116] So konnten Sundaresan et al. sowie Schulman et al. eine Assoziation zwischen HLA-Antikörpern und dem BOS feststellen. Beide Gruppen verwendeten jedoch Antikörperdetektionstechniken mit geringerer Sensitivität.[113, 114] Jaramillo et al. fanden hingegen einen statistisch bedeutenden Zusammenhang nur für HLA-Antikörper, welche mittels ELISA detektiert wurden, nicht jedoch für Antikörper, welche mittels der

zytotoxischen Methode bestimmt wurden.[115] Girnita et al. testeten die Seren ihrer Studienpopulation ebenfalls mittels ELISA. Von 51 Patienten entwickelten 14 Patienten HLA-Antikörper. Dies sind 27,5 % der Patienten, im Vergleich zu den 17,8 % in dieser vorliegenden Studienpopulation. Sie konnten in einer Risikofaktorenanalyse für das BOS HLA-Antikörper als unabhängigen signifikanten Risikofaktor identifizieren.[117] Snyder et al. konnten mittels Durchflusszytometrie in einem Studienzeitraum von 10 Jahren bei 32 % ihrer Patienten HLA-Antikörper nachweisen, welche unabhängig mit dem BOS und dem Versterben assoziiert sind.[112] Im Gegensatz zu den bisher vorgestellten Studien konnte eine niederländische Gruppe keinen Zusammenhang zwischen HLA-Antikörpern und dem BOS finden.[92, 93] Die Autoren führten das Ergebnis wie bereits vorangehend erläutert auf die immunsuppressive Therapie zurück. Eine signifikante Assoziation von HLA-Antikörpern (unabhängig von der Spezifizierung) mit dem BOS in einer Studienpopulation mit einer immunsuppressiven Erhaltungstherapie vorwiegend basierend auf Tacrolimus und MMF ist erstmalig durch unsere Gruppe beschrieben worden.[118]

Des Weiteren war neben dem allgemeinen Nachweis von HLA-Antikörpern nach Transplantation auch der Nachweis von *de novo* HLA-Antikörpern an das BOS sowie an das BOS 3 ( $p=0,046$  und  $p<0,0001$ ) assoziiert. 12,5 % der Patienten entwickelten diese. Andere Forschungsgruppen kamen zu ähnlichen Ergebnissen. So haben beispielsweise Smith et al. in ihrer 339 Patienten umfassenden Studie eine signifikante Korrelation von HLA-Antikörpern, welche die Patienten nach Transplantation entwickelten, und dem BOS finden können.[44] Zur Detektion setzten sie einen Panel-reaktiven-Antikörper-Test ein (PRA), welcher im Vergleich zum verwendeten Luminex®-Assay weniger Sensitivität besitzt. In der bereits angesprochenen Studie von Girnita et al., waren 12 der 14 HLA-Antikörper *de novo* HLA-Antikörper.[117] Mittels Durchflusszytometrie konnte eine andere Studiengruppe bei 11 % ihrer 90 Patienten *de novo* HLA-Antikörper nachweisen, welche eine Assoziation mit dem BOS aufwiesen.[103] Aufgrund der eigenen Studienergebnisse sowie der oben beschriebenen Evidenz kann man davon ausgehen, dass *de novo* HLA-Antikörper mit dem BOS assoziiert sind.

Der Nachweis eines HLA-I-Antikörpers nach Transplantation war in der vorliegenden Studie nicht signifikant mit dem BOS sowie dem BOS 3 vergesellschaftet. Für das BOS 3 ergab sich jedoch ein statistischer Trend bezüglich einer geringeren Freiheit von BOS 3 ( $p=0,063$ ). Patienten mit HLA-II-Antikörper litten nicht signifikant häufiger unter einem BOS sowie



BOS 3. Es zeigte sich jedoch ein statistischer Trend für eine geringere Freiheit von BOS ( $p=0,098$ ). Insgesamt gestalteten sich aus statistischer Sicht die Subgruppenanalysen bezüglich der HLA-Antikörper (z.B. HLA-I-AK oder non-DSA, usw.) schwierig. Dies ist auf die relativ geringen Gruppengrößen und der damit verbundenen schwierigen statistischen Analysen zurückzuführen. Insgesamt ist die Literatur diesbezüglich auch deutlich eingeschränkt. In der bereits angesprochenen Studie von Jaramillo et al. handelte es sich bei allen mittels ELISA identifizierten HLA-Antikörpern, welche signifikant mit dem BOS assoziiert sind, um HLA-I-Antikörper. Demnach waren in dieser Studie auch HLA-I-Antikörper mit BOS signifikant assoziiert.[115] Bharat et al. konnten die gehäufte Entwicklung von HLA-II-Antikörpern nach PGD nachweisen und sahen in diesem Zusammenhang die Verbindung zum BOS.[119] In der vorliegenden Studie erlitten Patienten mit HLA-II-Antikörpern nicht signifikant häufiger eine PGD. Aus diesen Daten lassen sich keine eindeutige Schlussfolgerung bezüglich der Bedeutung von HLA-I- oder HLA-II-Antikörpern ziehen. Die statistischen Trends lassen jedoch vor dem Hintergrund der geringen Populationsgrößen der Patienten mit HLA-I- und HLA-II-Antikörper einen Zusammenhang zum BOS vermuten. Es ist sicher auch denkbar, dass die beide Arten von Antikörpern auf unterschiedliche Art und Weise von pathophysiologischer Bedeutung für das BOS/BO sind.

Die Kaplan-Meier-Analyse zeigte eine statistisch signifikante Assoziation des CMV-Status des Spenders an das BOS ( $p=0,020$ ). Die multivariate Analyse zeigte den CMV-Status des Spenders als unabhängigen Risikofaktor für das BOS ( $p=0,018$ ). Ein Zusammenhang zwischen dem CMV-Status des Empfängers und dem BOS fand sich dagegen nicht. Smith et al. stellten in ihrer Studie einen ähnlichen Zusammenhang fest: CMV-negative Empfänger, welche eine Lunge von einem CMV-positiven Spender transplantiert bekommen hatten, entwickelten signifikant häufiger ein BOS.[44] Ähnliche Ergebnisse konnten auch von anderen Gruppen gefunden werden.[24] Luckraz et al. konnten hingegen keinen Einfluss des CMV-Serostatus von Spender und Empfänger auf das BOS finden.[120] Den CMV-Serostatus des Organspenders kann man vermutlich als Surrogatmarker für potenzielle CMV-Infektionen annehmen. Snyder et al. demonstrierten, dass das Auftreten einer CMV-Pneumonie, trotz prophylaktischer CMV-Therapie sowie antiviraler Behandlung, das Risiko für ein BOS erhöht.[121] Die CMV-Pneumonie als Risikofaktor für das BOS wird auch durch die Ergebnisse von Weigt et al. gestützt.[122]

Die Kaplan-Meier Analysen identifizierten des Weiteren das Auftreten von akuten zellulären Abstoßungen als signifikanten Risikofaktor für das BOS ( $p=0,041$ ). Dies ist in Übereinstimmung mit der allgemeinen wissenschaftlichen Meinung. So haben diverse Studien akute Abstoßungsreaktionen als einen der unabhängigen Prädiktoren für das BOS charakterisiert.[19, 24, 36, 123] Auch der Nachweis einer geringgradigen Abstoßung (A1 nach ISHLT) hat einen Einfluss auf das BOS.[29, 33, 34] In der multivariaten Analyse zeigte sich in der hier vorliegenden Studie das Auftreten akuter Abstoßungen nicht als unabhängiger Risikofaktor für das BOS. Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, dass sowohl die Bildung von *de novo* DSA als auch das Auftreten akuter Abstoßungen Ausdruck immunologischer Inkompatibilität sind.

In den Analysen konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Alter, bzw. dem Geschlecht der Patienten und dem BOS festgestellt werden. Diese Ergebnisse sind im Einklang mit dem überwiegenden Anteil der in der Literatur publizierten Studien. So haben Sharples et al. im Rahmen ihres Reviews keine Studie finden können, bei welcher das Geschlecht ein Prädiktor für das BOS ist.[27] 22 von 25 Studien konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem Alter des Organempfängers und dem BOS feststellen.[27] In 3 Studien fand sich eine Assoziation an ein jüngeres Alter.[36, 114, 124]

Die Transplantationsart konnte ebenfalls nicht als Risikofaktor für ein BOS identifiziert werden. Der Anteil an Patienten, welche ein BOS entwickelten, war mit 19,4 % (SLTX) und 18,4 % (DLTX) in beiden Gruppen annähernd gleich. Vereinzelt konnten Studien einen Zusammenhang zwischen der Transplantationsart und dem BOS herstellen.[125, 126] Erfolgte die Transplantation aufgrund einer COPD oder IPF konnte ein Effekt der Operationstechnik auf das BOS gezeigt werden.[127, 128] In Zusammenschau ist aber vermutlich von keinem generellen ätiologischen Zusammenhang zwischen der Transplantationsart und dem BOS auszugehen, was mit den hier vorliegenden Daten übereinstimmt.[27]

Für die Indikation, die der Transplantation zu Grunde lag, ergab sich ebenso kein Zusammenhang zum BOS. Zwar war der Anteil an Patienten, welche an einem BOS leiden, in der Gruppe der ILD-Patienten am höchsten, jedoch zeigte sich der Unterschied statistisch nicht bedeutsam. Der überwiegende Anteil an Studien kam zu ähnlichen Ergebnissen, wobei in manchen Studien limitierte Vor- oder Nachteile für verschiedene Erkrankungen (z.B. CF) gefunden wurden.[24, 27, 125, 127, 129-132] Bei zusammenfassender Betrachtung der

verschiedenen Studien kann man jedoch vermutlich davon ausgehen, dass die Diagnose, welche zur Transplantation geführt hat, maximal eine eingeschränkte Relevanz als Prädiktor für das BOS besitzt.

Die Ischämiezeit stellte in den vorliegenden Daten keinen Risikofaktor für das BOS dar ( $p=0,47$ ). Dies ist übereinstimmend mit dem deutlich überwiegenden Anteil publizierter Studien, welche ebenso keine Assoziation fanden.[24, 36, 129, 130, 133] In der Studienpopulation wich das durchschnittliche Alter des Organspenders von Patienten mit und ohne BOS nicht signifikant voneinander ab ( $p=0,751$ ). In der Literatur wird ein Alter des Organspenders bis 55 Jahre nicht mit einem erhöhten Risiko ein BOS zu entwickeln, oder mit einem schlechteren Langzeitüberleben in Verbindung gebracht. War der Spender älter (insbesondere >65 Jahre) konnten Studien eine Verbindung zu schlechteren Langzeitergebnissen finden.[134-137]

Ein Zusammenhang zwischen der PGD und dem BOS konnte nicht gefunden werden. Einzelne Studien konnten ebenso keinen Zusammenhang zwischen der PGD und dem BOS herstellen.[138] Die PGD ist als Risikofaktor für das BOS jedoch akzeptiert.[139] So fanden zahlreiche Studien eine Assoziation.[38, 39, 140, 141] Dass die hier vorliegende Studie diese nicht identifiziert konnte, könnte möglicherweise an der für diese Fragestellung zu geringeren Größe der Studienpopulation (z.B. im Vgl. Daud et al. und Huang et al.) und damit verbundenen geringen Teststärke liegen.[38, 141]

## **4.2 Charakterisierung der Patienten mit HLA-Antikörpern**

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Identifikation von Merkmalen und Risikofaktoren, welche mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der HLA-Antikörperproduktion einhergehen bzw. dafür ursächlich sind. Vorausgegangene Schwangerschaften sowie Bluttransfusionen, welche insbesondere einen Einfluss auf die Bildung von präformierten Antikörpern besitzen, blieben hierbei unberücksichtigt, da insbesondere der Zusammenhang zwischen der Lungentransplantation sowie der *de novo* Antikörperproduktion beleuchtet werden sollte.

Ein Einfluss der immunsuppressiven Erhaltungstherapie auf die HLA-Antikörperproduktion ist bekannt. So haben Paul Terasaki und Miykui Ozawa in einer prospektiven multizentrischen Studie bei Nierentransplantatierten signifikante Unterschiede in Bezug auf das Auftreten von

HLA-Antikörpern feststellen können.[100] Unter der Therapie mit Ciclosporin und Azathioprin haben 18,1 % der Patienten HLA-Antikörper entwickelt. Unter Tacrolimus und MMF nur 12,9 % ( $p=0,073$ ) bzw. unter Ciclosporin und MMF sogar nur 9,8 % ( $p<0,0001$ ). Hinsichtlich des Anteils der Patienten, welche Antikörper entwickelt haben, gab es in der hier vorliegenden Population keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit von der Immunsuppression. Lederer et al. konnten zeigen, dass ein verzögerter Therapiebeginn mit MMF nach Transplantation zu einem erhöhten Anteil an Patienten mit HLA-Antikörpern führt.[142] Ein zeitweises Pausieren ( $>3$  Monate) von MMF wirkte sich in der hier vorliegenden Studie hingegen nicht auf den Anteil der Patienten, welche HLA-Antikörper produzieren, aus.

Patienten mit *de novo* DSA litten häufiger unter einer Cystischen Fibrose (44,4 % vs. 17,1 %) und waren im Durchschnitt um ca. 10 Jahre jünger ( $38,7 \pm 15,9$  Jahre vs.  $47,5 \pm 12,1$  Jahre) als Patienten ohne *de novo* DSA. Beide Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant, zeigen jedoch einen Trend mit p-Werten von 0,067 (für CF) und 0,060 (für das Alter) auf. Lobo et al. haben unter den Patienten mit *de novo* DSA bisher als einzige einen erhöhten Anteil an Patienten mit Cystischer Fibrose feststellen können ( $p=0,035$ ).[105] In ihrer retrospektiven Studie waren die Patienten mit *de novo* DSA im Mittel (mit  $28,8 \pm 7,9$  Jahren vs.  $41,7 \pm 14,7$  Jahren) ebenso jünger. Wobei kein p-Wert angegeben ist. Möglicherweise steht das jüngere Alter in Zusammenhang mit der Cystischen Fibrose. Aber auch im Bereich der Nierentransplantation ist ein jüngeres Alter der Patienten in mehreren Studien mit der Entwicklung von *de novo* DSA assoziiert.[108, 143-145] O'Leary sieht den Zusammenhang am ehesten durch eine erhöhte Non-Compliance oder durch ein widerstandsfähigeres Immunsystem.[108]

Die Organspender der Patienten mit HLA-I-AK waren im Durchschnitt mit  $31,4 \pm 15,0$  Jahren im Vergleich zu Patienten ohne diesen ( $41,5 \pm 13,7$  Jahre) um ca. 10 Jahre jünger ( $p=0,06$ ). Der Zusammenhang ist statistisch fast signifikant. Möglicherweise spielen auch in diesem Zusammenhang die Widerstandsfähigkeit sowie die Reaktivität des Immunsystems in Abhängigkeit vom Alter eine Rolle.

In der vorliegenden Studie konnte bei einem geringeren Anteil an Patienten mit HLA-II-Antikörpern eine lymphozytäre Bronchiolitis festgestellt werden und es erfolgten im Mittel auch weniger Nachweise einer lymphozytären Bronchiolitis bei Patienten mit HLA-II-Antikörpern ( $0,6 \pm 0,9$  Episoden bei Patienten mit HLA-II-Ak vs.  $1,3 \pm 1,5$  Episoden bei

Patienten ohne HLA-II-Ak) ( $p=0,051$  und  $p=0,036$ ). Des Weiteren zeigte sich ein statistischer Trend dafür, dass der Anteil an Patienten mit lymphozytärer Bronchiolitis unter den Patienten mit HLA-Antikörpern geringer ist ( $p=0,095$ ). Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Girntia et al., welche gehäuft das Auftreten der lymphozytären Bronchiolitis bei Patienten mit HLA-Antikörpern fanden.[116] In der hier vorliegenden Studie wird der statistische Trend für HLA-Antikörper vor allem durch die Subpopulation der HLA-II-Antikörper getragen. Ein fundiertes Erklärungsmodell für diese Ergebnisse lässt sich derzeit auf der Grundlage des aktuellen Wissenstandes nicht aufstellen. Diesem Sachverhalt sollte sicherlich in weiteren Studien nachgegangen werden.

### **4.3 Limitationen**

Die Ergebnisse der Studie müssen im Kontext der Limitationen der Studie interpretiert werden. Im Rahmen des retrospektiven Studiendesigns müssen zwangsweise Abstriche im Bezug auf die Vollständigkeit der Daten gemacht werden und die damit einhergehende sinkenden Aussagekraft akzeptiert werden. Darüber hinaus hat sich die Lungentransplantation heute zwar zu einer etablierten Therapieoption bei vielen Lungenerkrankungen im Endstadium entwickelt, jedoch ist die Gesamtzahl der transplantierten Lungen aufgrund der Organknappheit gering, sodass die Größe der Studienpopulationen, wie auch in dieser Studie, oftmals relativ beschränkt ist. Daher können bei den Analysen mögliche vorhandene Zusammenhänge, z.B. hinsichtlich verschiedener HLA-Antikörper Subgruppen, im Verborgenen bleiben. Eine weitere Limitation der Studie stellt das verhältnismäßig selten durchgeführte Antikörperscreening dar. Der Anteil an Patienten, welche HLA-Antikörper entwickelten, kann daher möglicherweise unterschätzt werden. In diesem Zusammenhang muss man auch erwähnen, dass für den Luminex®-Assay bis heute keine allgemein akzeptierten genormten Grenzen (MFI) bzw. Definitionen existieren, um von Antikörperpositivität/ Spender-Spezifität zu sprechen. Die für die Dissertation angewendete Grenze von 3000 MFI ist als eher hoch einzustufen (z.B. im Vergleich zu Snyder et al. [112] und Safavi et al. [106]), sodass diesbezüglich die „eigentliche“ Anzahl an „antikörperpositiven Patienten“ tendenziell eher höher einzuschätzen ist. Vor 2010 konnte aufgrund mangelnder DNA-Proben keine Typisierung der Spender bezüglich HLA-DP und –DQA erfolgen. Daraus resultiert die Konsequenz, dass die diesbezüglichen HLA-Antikörper nicht als Spender-spezifisch definiert werden konnten und deshalb wiederum die Anzahl der

DSA unterschätzt wird. Im Rahmen der Identifikation von Charakteristika von Patienten, welche im Verlauf Antikörper entwickelten, wurden vorangegangene Schwangerschaften sowie Bluttransfusionen, welche bekanntermaßen einen Einfluss auf die Entwicklung von HLA-Antikörpern haben, nicht erfasst, sodass diesbezüglich keine Aussagen gemacht werden können.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Die Lungentransplantation hat sich als potenzielle Therapiemöglichkeit bei diversen schweren Lungenerkrankungen im Endstadium etabliert. Insbesondere durch das häufige Auftreten der chronischen Transplantatabstoßung bzw. des Bronchiolitis obliterans Syndroms sind die Langzeitergebnisse jedoch unbefriedigend. Aktuell besteht die Diskussion ob und in welchem Umfang HLA-Antikörper und insbesondere *de novo* DSA eine Rolle in der Genese des BOS spielen. Für eine Patientenpopulation, welche vorwiegend eine immunsuppressive Therapie mit MMF, Tacrolimus und einem Steroid erhält, ist die Studienlage unzureichend.

Bei der durchgeführten 120 Patienten umfassenden retrospektiven Studie zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass ein Zusammenhang besteht. So konnten in den Kaplan-Meier-Analysen signifikante Assoziationen zwischen dem Nachweis von HLA-Antikörpern, sowie insbesondere von *de novo* DSA und dem BOS identifiziert werden. Speziell das Auftreten des BOS 3 ist höchst signifikant mit dem Auftreten von *de novo* DSA assoziiert. Des Weiteren zeigten sich signifikante Assoziationen zwischen dem Auftreten von akuten Abstoßungsreaktionen sowie dem CMV-Status des Spenders mit dem BOS. Multivariate Analysen identifizierten eine unabhängige Assoziation des CMV-Status des Spenders und insbesondere von *de novo* DSA mit dem BOS/BOS 3. Sowohl für das BOS sowie BOS 3 geht der Nachweis eines *de novo* DSA mit einem deutlich erhöhten Hazard Ratio einher. Die insgesamt eindeutigen Ergebnisse müssen natürlich im Rahmen der Limitationen der Studie interpretiert werden, wie beispielsweise dem retrospektiven Studiendesign. Trotz dieser Limitationen kann man davon ausgehen, dass HLA-Antikörper und insbesondere *de novo* DSA bedeutende Risikofaktoren für das BOS sind oder, dass es sich dabei zumindest um ein immunologisches Epiphänomen handelt. Dies scheint auch, gestützt vor allem durch die hier vorliegenden Ergebnisse, für Patientenpopulationen zu gelten, welche eine immunsuppressive Erhaltungstherapie aus MMF, Tacrolimus und einem Steroid erhalten. Regelmäßige Antikörpermessungen sowie eine engmaschige Beobachtung von Patienten mit positivem Antikörpernachweis scheinen demzufolge unabdingbar. Insbesondere auch deshalb, da bisher keine guten Therapieoptionen für das BOS existieren und potenzielle Therapieansätze in Bezug auf HLA-Antikörper denkbar sind. Diese sind zum Beispiel eine medikamentöse Therapie (z.B. mit Rituximab oder Bortezomib) oder die Durchführung einer Plasmapherese. Weitere umfangreichere prospektive Studien sowie Interventionsstudien scheinen daher nun

der folgerichtige Schritt zu sein, um die Bedeutung von HLA-Antikörpern weiter einschätzen und das damit möglicherweise verbundene Therapiepotential ausschöpfen zu können.



## 6. Verzeichnisse

### 6.1 Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
AMR	Antibody Mediated Rejection  Antikörper-vermittelte Abstoßungsreaktion
ARAD	Azithromycin Responsive Allograft Dysfunction  Auf Azithromycin ansprechendes Transplantatversagen
BO	Bronchiolitis obliterans
BOS	Bronchiolitis obliterans Syndrom
Bzgl.	Bezüglich
CI	Konfidenzintervall
CLAD	Chronic Lung Allograft Dysfunction  Chronisches Lungentransplant Versagen
CMV	Cytomegalie-Virus
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CTEPH	Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie
<i>De novo</i>	Latein: Neu  Im Zusammenhang mit HLA-AK: Nach Transplantation neu aufgetretener HLA-Antikörper
<i>De novo</i> DSA	Neu aufgetretener Donor / Spender-spezifischer Antikörper

DLTX	Doppelseitige Lungentransplantation
DSA	Donor/Spender-spezifischer HLA-Antikörper
E	Empfänger
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Engl.	Englisch
FEV1	Forciertes expiratorisches Volumen expiratorische Einsekundenkapazität
FVC	Forcierte expiratorische Vitalkapazität
HHV-6	Humanes Herpesvirus-6
HLA	Human Leukocyte Antigen Humanes Leukozytenantigen
IL-17	Interleukin 17
ILD	Interstitielle Lungenerkrankungen
ISHLT	International Society of Heart Lung Transplantation Internationale Gesellschaft für Herz- und Lungentransplantation
IVIG	Intravenöse Immunglobuline
Kum.	Kumulativ
MHC	Major Histocompatibility Complex Haupthistokompatibilitätskomplex
MICA	MHC Class I Polypeptide-Related Sequence A Antibody

MFI	Mean Fluorescence Intensity  Mittlere Fluoreszenzintensität
MMF	Mycophenolatmofetil
Non-DSA	Antikörper gegen nicht-Spenderspezifische HLA-Merkmale
N.s.	Nicht signifikant
OAD	Obliterative Airway Disease
PGD	Primary Graft Dysfunction  Primäres Transplantatversagen
PRA	Panel-reaktive-Antikörper
RAS	Restrictive allograft dysfunction/  Restriktive Allograft Dysfunktion
S	Spender
Sign.	Signifikant
SLTX	Einseitige Lungentransplantation
SSO	Sequenz spezifische Oligonukleotide
SSP	Sequenz spezifische Primer
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$

## 6.2 Literaturverzeichnis

1. Hardy, JD, Webb, WR, Dalton, ML, Jr., Walker, GR, Jr. Lung Homotransplantation in Man. JAMA 1963; 186:1065.
2. Hartert, M, Senbaklavacin, O, Gohrbandt, B, et al. Lung transplantation: a treatment option in end-stage lung disease. Dtsch Arztebl Int 2014; 111:107.
3. Kotsimbos, T, Williams, TJ, Anderson, GP. Update on lung transplantation: programmes, patients and prospects. Eur Respir Rev 2012; 21:271.
4. Yusen, RD, Christie, JD, Edwards, LB, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirtieth adult lung and heart-lung transplant report--2013; focus theme: age. J Heart Lung Transplant 2013; 32:965.
5. Kugler, C, Gottlieb, J, Warnecke, G, et al. Health-related quality of life after solid organ transplantation: a prospective, multiorgan cohort study. Transplantation 2013; 96:316.
6. Singer, JP, Singer, LG. Quality of life in lung transplantation. Semin Respir Crit Care Med 2013; 34:421.
7. Singer, JP, Chen, J, Blanc, PD, et al. A thematic analysis of quality of life in lung transplant: the existing evidence and implications for future directions. Am J Transplant 2013; 13:839.
8. Cooper, JD, Pearson, FG, Patterson, GA, et al. Technique of successful lung transplantation in humans. J Thorac Cardiovasc Surg 1987; 93:173.
9. Boffini, M, Ranieri, VM, Rinaldi, M. Lung transplantation: is it still an experimental procedure? Curr Opin Crit Care 2010; 16:53.
10. Patterson, GA, Cooper, JD, Goldman, B, et al. Technique of successful clinical double-lung transplantation. Ann Thorac Surg 1988; 45:626.
11. Glanville, AR. Bronchoscopic monitoring after lung transplantation. Semin Respir Crit Care Med 2010; 31:208.
12. Verleden, GM, Raghu, G, Meyer, KC, et al. A new classification system for chronic lung allograft dysfunction. J Heart Lung Transplant 2014; 33:127.
13. Estenne, M, Maurer, JR, Boehler, A, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. J Heart Lung Transplant 2002; 21:297.
14. Sato, M, Keshavjee, S. Bronchiolitis obliterans syndrome: alloimmune-dependent and -independent injury with aberrant tissue remodeling. Semin Thorac Cardiovasc Surg 2008; 20:173.

15. van Den, BJ, Geertsma, A, van Der, BW, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation and health-related quality of life. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1937.
16. Gerbase, MW, Soccal, PM, Spiliopoulos, A, et al. Long-term health-related quality of life and walking capacity of lung recipients with and without bronchiolitis obliterans syndrome. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27:898.
17. Vermeulen, KM, Groen, H, van der Bij, W, et al. The effect of bronchiolitis obliterans syndrome on health related quality of life. *Clin Transplant* 2004; 18:377.
18. van den Berg, JW, van Enkevort, PJ, TenVergert, EM, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and additional costs of lung transplantation. *Chest* 2000; 118:1648.
19. Hayes, D, Jr. A review of bronchiolitis obliterans syndrome and therapeutic strategies. *J Cardiothorac Surg* 2011; 6:92.
20. Verleden, GM. Chronic allograft rejection (obliterative bronchiolitis). *Semin Respir Crit Care Med* 2001; 22:551.
21. Christie, JD, Edwards, LB, Kucheryavaya, AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report--2010. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29:1104.
22. Finlen Copeland, CA, Snyder, LD, Zaas, DW, et al. Survival after bronchiolitis obliterans syndrome among bilateral lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182:784.
23. Valentine, VG, Robbins, RC, Berry, GJ, et al. Actuarial survival of heart-lung and bilateral sequential lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15:371.
24. Heng, D, Sharples, LD, McNeil, K, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome: incidence, natural history, prognosis, and risk factors. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17:1255.
25. Yousem, SA, Berry, GJ, Cagle, PT, et al. Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15:1.
26. Stewart, S, Fishbein, MC, Snell, GI, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26:1229.
27. Sharples, LD, McNeil, K, Stewart, S, Wallwork, J. Risk factors for bronchiolitis obliterans: a systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21:271.
28. Weigt, SS, DerHovanessian, A, Wallace, WD, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome: the Achilles' heel of lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34:336.

29. Hopkins, PM, Aboyoun, CL, Chhajed, PN, et al. Association of minimal rejection in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:1022.
30. Husain, AN, Siddiqui, MT, Holmes, EW, et al. Analysis of risk factors for the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:829.
31. Kroshus, TJ, Kshetry, VR, Savik, K, et al. Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 114:195.
32. Burton, CM, Iversen, M, Scheike, T, et al. Minimal acute cellular rejection remains prevalent up to 2 years after lung transplantation: a retrospective analysis of 2697 transbronchial biopsies. *Transplantation* 2008; 85:547.
33. Hachem, RR, Khalifah, AP, Chakinala, MM, et al. The significance of a single episode of minimal acute rejection after lung transplantation. *Transplantation* 2005; 80:1406.
34. Khalifah, AP, Hachem, RR, Chakinala, MM, et al. Minimal acute rejection after lung transplantation: a risk for bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2005; 5:2022.
35. El-Gamel, A, Sim, E, Hasleton, P, et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) and obliterative bronchiolitis following pulmonary transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18:828.
36. Girgis, RE, Tu, I, Berry, GJ, et al. Risk factors for the development of obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15:1200.
37. Glanville, AR, Aboyoun, CL, Havryk, A, et al. Severity of lymphocytic bronchiolitis predicts long-term outcome after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177:1033.
38. Daud, SA, Yusef, RD, Meyers, BF, et al. Impact of immediate primary lung allograft dysfunction on bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:507.
39. Whitson, BA, Prekker, ME, Herrington, CS, et al. Primary graft dysfunction and long-term pulmonary function after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26:1004.
40. Kumar, D, Erdman, D, Keshavjee, S, et al. Clinical impact of community-acquired respiratory viruses on bronchiolitis obliterans after lung transplant. *Am J Transplant* 2005; 5:2031.
41. Khalifah, AP, Hachem, RR, Chakinala, MM, et al. Respiratory viral infections are a distinct risk for bronchiolitis obliterans syndrome and death. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:181.
42. Gottlieb, J, Schulz, TF, Welte, T, et al. Community-acquired respiratory viral infections in lung transplant recipients: a single season cohort study. *Transplantation* 2009; 87:1530.

43. Neurohr, C, Huppmann, P, Leuchte, H, et al. Human herpesvirus 6 in bronchialveolar lavage fluid after lung transplantation: a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome? *Am J Transplant* 2005; 5:2982.
44. Smith, MA, Sundaresan, S, Mohanakumar, T, et al. Effect of development of antibodies to HLA and cytomegalovirus mismatch on lung transplantation survival and development of bronchiolitis obliterans syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 116:812.
45. Keenan, RJ, Lega, ME, Dummer, JS, et al. Cytomegalovirus serologic status and postoperative infection correlated with risk of developing chronic rejection after pulmonary transplantation. *Transplantation* 1991; 51:433.
46. Paraskeva, M, Bailey, M, Levvey, BJ, et al. Cytomegalovirus replication within the lung allograft is associated with bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2011; 11:2190.
47. Botha, P, Archer, L, Anderson, RL, et al. *Pseudomonas aeruginosa* colonization of the allograft after lung transplantation and the risk of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 2008; 85:771.
48. Vos, R, Vanaudenaerde, BM, Geudens, N, et al. Pseudomonal airway colonisation: risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation? *Eur Respir J* 2008; 31:1037.
49. Weigt, SS, Elashoff, RM, Huang, C, et al. *Aspergillus* colonization of the lung allograft is a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2009; 9:1903.
50. Vos, R, Blondeau, K, Vanaudenaerde, BM, et al. Airway colonization and gastric aspiration after lung transplantation: do birds of a feather flock together? *J Heart Lung Transplant* 2008; 27:843.
51. D'Ovidio, F, Mura, M, Tsang, M, et al. Bile acid aspiration and the development of bronchiolitis obliterans after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 129:1144.
52. Blondeau, K, Mertens, V, Vanaudenaerde, BA, et al. Gastro-oesophageal reflux and gastric aspiration in lung transplant patients with or without chronic rejection. *Eur Respir J* 2008; 31:707.
53. Davis, RD, Jr., Lau, CL, Eubanks, S, et al. Improved lung allograft function after fundoplication in patients with gastroesophageal reflux disease undergoing lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 125:533.
54. Cantu, E, 3rd, Appel, JZ, 3rd, Hartwig, MG, et al. J. Maxwell Chamberlain Memorial Paper. Early fundoplication prevents chronic allograft dysfunction in patients with gastroesophageal reflux disease. *Ann Thorac Surg* 2004; 78:1142.
55. Sato, M, Waddell, TK, Wagnetz, U, et al. Restrictive allograft syndrome (RAS): a novel form of chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30:735.
56. Verleden, GM, Vos, R, Verleden, SE, et al. Survival determinants in lung transplant patients with chronic allograft dysfunction. *Transplantation* 2011; 92:703.

57. Sato, M, Hwang, DM, Waddell, TK, et al. Progression pattern of restrictive allograft syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32:23.
58. Ofek, E, Sato, M, Saito, T, et al. Restrictive allograft syndrome post lung transplantation is characterized by pleuroparenchymal fibroelastosis. *Mod Pathol* 2013; 26:350.
59. Colvin, RB, Smith, RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:807.
60. Terasaki, PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3:665.
61. Klein, J, Sato, A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343:702.
62. Murphy, KP, Travers, P, Walport, M, Janeway, C. Janeway Immunologie, 7. Aufl., [1. dt. Aufl.] ed, Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg 2009.
63. Kiefel, V. Transfusionsmedizin und Immunhämatologie  
Grundlagen - Therapie - Methodik, 4., überarb. und erw. Aufl. ed, Springer, Berlin [u.a.].
64. Sack, U. Zelluläre Diagnostik  
Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie ; 163 Tabellen, Karger, Basel [u.a.].
65. Terasaki, PI, McClelland, JD. Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins. *Nature* 1964; 204:998.
66. Kao, KJ, Scornik, JC, Small, SJ. Enzyme-linked immunoassay for anti-HLA antibodies--an alternative to panel studies by lymphocytotoxicity. *Transplantation* 1993; 55:192.
67. Colombo, MB, Haworth, SE, Poli, F, et al. Luminex technology for anti-HLA antibody screening: evaluation of performance and of impact on laboratory routine. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; 72:465.
68. Monien, S, Salama, A, Schonemann, C. ELISA methods detect HLA antibodies with variable sensitivity. *Int J Immunogenet* 2006; 33:163.
69. Worthington, JE, Robson, AJ, Sheldon, S, et al. A comparison of enzyme-linked immunoabsorbent assays and flow cytometry techniques for the detection of HLA specific antibodies. *Hum Immunol* 2001; 62:1178.
70. Tait, BD, Hudson, F, Brewin, G, et al. Solid phase HLA antibody detection technology--challenges in interpretation. *Tissue Antigens* 2010; 76:87.
71. Cohen, D, Colvin, RB, Daha, MR, et al. Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int* 2012; 81:628.
72. Feucht, HE. Complement C4d in graft capillaries -- the missing link in the recognition of humoral alloreactivity. *Am J Transplant* 2003; 3:646.



73. Berry, G, Burke, M, Andersen, C, et al. Pathology of pulmonary antibody-mediated rejection: 2012 update from the Pathology Council of the ISHLT. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32:14.
74. Mengel, M, Husain, S, Hidalgo, L, Sis, B. Phenotypes of antibody-mediated rejection in organ transplants. *Transpl Int* 2012; 25:611.
75. Solez, K, Axelsen, RA, Benediktsson, H, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44:411.
76. Sis, B, Mengel, M, Haas, M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10:464.
77. Racusen, LC, Solez, K, Colvin, RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55:713.
78. Mengel, M, Sis, B, Haas, M, et al. Banff 2011 Meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2012; 12:563.
79. Haas, M, Sis, B, Racusen, LC, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014; 14:272.
80. Frost, AE, Jammal, CT, Cagle, PT. Hyperacute rejection following lung transplantation. *Chest* 1996; 110:559.
81. Choi, JK, Kearns, J, Palevsky, HI, et al. Hyperacute rejection of a pulmonary allograft. Immediate clinical and pathologic findings. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1015.
82. Scornik, JC, Zander, DS, Baz, MA, et al. Susceptibility of lung transplants to preformed donor-specific HLA antibodies as detected by flow cytometry. *Transplantation* 1999; 68:1542.
83. Bittner, HB, Dunitz, J, Hertz, M, et al. Hyperacute rejection in single lung transplantation--case report of successful management by means of plasmapheresis and antithymocyte globulin treatment. *Transplantation* 2001; 71:649.
84. Masson, E, Stern, M, Chabod, J, et al. Hyperacute rejection after lung transplantation caused by undetected low-titer anti-HLA antibodies. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26:642.
85. de Jesus Peixoto Camargo, J, Marcantonio Camargo, S, Marcelo Schio, S, et al. Hyperacute rejection after single lung transplantation: a case report. *Transplant Proc* 2008; 40:867.
86. Wallace, WD, Li, N, Andersen, CB, et al. Banff study of pathologic changes in lung allograft biopsy specimens with donor-specific antibodies. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35:40.

87. Jaramillo, A, Smith, CR, Maruyama, T, et al. Anti-HLA class I antibody binding to airway epithelial cells induces production of fibrogenic growth factors and apoptotic cell death: a possible mechanism for bronchiolitis obliterans syndrome. *Hum Immunol* 2003; 64:521.
88. Maruyama, T, Jaramillo, A, Narayanan, K, et al. Induction of obliterative airway disease by anti-HLA class I antibodies. *Am J Transplant* 2005; 5:2126.
89. Fukami, N, Ramachandran, S, Saini, D, et al. Antibodies to MHC class I induce autoimmunity: role in the pathogenesis of chronic rejection. *J Immunol* 2009; 182:309.
90. Takenaka, M, Subramanian, V, Tiriveedhi, V, et al. Complement activation is not required for obliterative airway disease induced by antibodies to major histocompatibility complex class I: Implications for chronic lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31:1214.
91. Takenaka, M, Tiriveedhi, V, Subramanian, V, et al. Antibodies to MHC class II molecules induce autoimmunity: critical role for macrophages in the immunopathogenesis of obliterative airway disease. *PLoS One* 2012; 7:e42370.
92. Paantjens, AW, van de Graaf, EA, van Ginkel, WG, et al. Lung transplantation under a tacrolimus/mycophenolate mofetil-based immunosuppressive regimen results in low titers of HLA and MICA IgG antibodies which are not related to development of BOS. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29:596.
93. Paantjens, AW, van de Graaf, EA, Kwakkel-van Erp, JM, et al. The Induction of IgM and IgG Antibodies against HLA or MICA after Lung Transplantation. *Pulm Med* 2011; 2011:432169.
94. Berry, GJ, Brunt, EM, Chamberlain, D, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Lung Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant* 1990; 9:593.
95. Cooper, JD, Billingham, M, Egan, T, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12:713.
96. De Vito Dabbs, A, Hoffman, LA, Iacono, AT, et al. Are symptom reports useful for differentiating between acute rejection and pulmonary infection after lung transplantation? *Heart Lung* 2004; 33:372.
97. Thabut, G, Mal, H, Cerrina, J, et al. Graft ischemic time and outcome of lung transplantation: a multicenter analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:786.
98. Christie, JD, Carby, M, Bag, R, et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24:1454.
99. Neurohr, C, Huppmann, P, Zimmermann, G, et al. Tacrolimus and mycophenolate mofetil as first line immunosuppression after lung transplantation. *Transpl Int* 2009; 22:635.

100. Terasaki, PI, Ozawa, M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 2004; 4:438.
101. Speich, R, Schneider, S, Hofer, M, et al. Mycophenolate mofetil reduces alveolar inflammation, acute rejection and graft loss due to bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Pulm Pharmacol Ther* 2010; 23:445.
102. Moffatt, SD, Demers, P, Robbins, RC, et al. Lung transplantation: a decade of experience. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24:145.
103. Palmer, SM, Davis, RD, Hadjiliadis, D, et al. Development of an antibody specific to major histocompatibility antigens detectable by flow cytometry after lung transplant is associated with bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 2002; 74:799.
104. Hachem, RR, Yusen, RD, Meyers, BF, et al. Anti-human leukocyte antigen antibodies and preemptive antibody-directed therapy after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29:973.
105. Lobo, LJ, Aris, RM, Schmitz, J, Neuringer, IP. Donor-specific antibodies are associated with antibody-mediated rejection, acute cellular rejection, bronchiolitis obliterans syndrome, and cystic fibrosis after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32:70.
106. Safavi, S, Robinson, DR, Soresi, S, et al. De novo donor HLA-specific antibodies predict development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2014.
107. Morrell, MR, Pilewski, JM, Gries, CJ, et al. De novo donor-specific HLA antibodies are associated with early and high-grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2014; 33:1288.
108. O'Leary, JG, Samaniego, M, Barrio, MC, et al. The Influence of Immunosuppressive Agents on the Risk of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Production in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation* 2016; 100:39.
109. Lyu, DM, Grazia, TJ, Benson, AB, et al. Pre-transplant presence of antibodies to MICA and HLA class I or II are associated with an earlier onset of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients. *Clin Transpl* 2012:237.
110. Brugiere, O, Suberbielle, C, Thabut, G, et al. Lung Transplantation in Patients with Pretransplantation Donor-Specific Antibodies Detected by Luminex Assay. *Transplantation* 2013.
111. Smith, JD, Ibrahim, MW, Newell, H, et al. Pre-transplant donor HLA-specific antibodies: characteristics causing detrimental effects on survival after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2014; 33:1074.
112. Snyder, LD, Wang, Z, Chen, DF, et al. Implications for Human Leukocyte Antigen Antibodies after Lung Transplantation: A 10 year experience in 441 patients. *Chest* 2013.

113. Schulman, LL, Ho, EK, Reed, EF, et al. Immunologic monitoring in lung allograft recipients. *Transplantation* 1996; 61:252.
114. Sundaresan, S, Mohanakumar, T, Smith, MA, et al. HLA-A locus mismatches and development of antibodies to HLA after lung transplantation correlate with the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 1998; 65:648.
115. Jaramillo, A, Smith, MA, Phelan, D, et al. Development of ELISA-detected anti-HLA antibodies precedes the development of bronchiolitis obliterans syndrome and correlates with progressive decline in pulmonary function after lung transplantation. *Transplantation* 1999; 67:1155.
116. Girnita, AL, McCurry, KR, Zeevi, A. Increased lung allograft failure in patients with HLA-specific antibody. *Clin Transpl* 2007:231.
117. Girnita, AL, Duquesnoy, R, Yousem, SA, et al. HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2005; 5:131.
118. Kauke, T, Kneidinger, N, Martin, B, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome due to donor-specific HLA-antibodies. *Tissue Antigens* 2015; 86:178.
119. Bharat, A, Kuo, E, Steward, N, et al. Immunological link between primary graft dysfunction and chronic lung allograft rejection. *Ann Thorac Surg* 2008; 86:189.
120. Luckraz, H, Sharples, L, McNeil, K, et al. Cytomegalovirus antibody status of donor/recipient does not influence the incidence of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22:287.
121. Snyder, LD, Finlen-Copeland, CA, Turbyfill, WJ, et al. Cytomegalovirus pneumonitis is a risk for bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:1391.
122. Weigt, SS, Elashoff, RM, Keane, MP, et al. Altered levels of CC chemokines during pulmonary CMV predict BOS and mortality post-lung transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8:1512.
123. Corris, PA. Lung transplantation. Bronchiolitis obliterans syndrome. *Chest Surg Clin N Am* 2003; 13:543.
124. Keller, CA, Cagle, PT, Brown, RW, et al. Bronchiolitis obliterans in recipients of single, double, and heart-lung transplantation. *Chest* 1995; 107:973.
125. Hadjiliadis, D, Davis, RD, Palmer, SM. Is transplant operation important in determining posttransplant risk of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients? *Chest* 2002; 122:1168.
126. Gerbase, MW, Spiliopoulos, A, Rochat, T, et al. Health-related quality of life following single or bilateral lung transplantation: a 7-year comparison to functional outcome. *Chest* 2005; 128:1371.

127. Hadjiliadis, D, Chaparro, C, Gutierrez, C, et al. Impact of lung transplant operation on bronchiolitis obliterans syndrome in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Transplant* 2006; 6:183.
128. Neurohr, C, Huppmann, P, Thum, D, et al. Potential functional and survival benefit of double over single lung transplantation for selected patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Transpl Int* 2010; 23:887.
129. Meyer, DM, Bennett, LE, Novick, RJ, Hosenpud, JD. Effect of donor age and ischemic time on intermediate survival and morbidity after lung transplantation. *Chest* 2000; 118:1255.
130. Bando, K, Paradis, IL, Similo, S, et al. Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. An analysis of risk factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110:4.
131. Sharples, LD, Tamm, M, McNeil, K, et al. Development of bronchiolitis obliterans syndrome in recipients of heart-lung transplantation--early risk factors. *Transplantation* 1996; 61:560.
132. Mendeloff, EN, Huddleston, CB, Mallory, GB, et al. Pediatric and adult lung transplantation for cystic fibrosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115:404.
133. Reichenspurner, H, Girgis, RE, Robbins, RC, et al. Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1995; 60:1845.
134. Hennessy, SA, Hranjec, T, Swenson, BR, et al. Donor factors are associated with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 2010; 89:1555.
135. Pizanis, N, Heckmann, J, Tsagakis, K, et al. Lung transplantation using donors 55 years and older: is it safe or just a way out of organ shortage? *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 38:192.
136. Baldwin, MR, Peterson, ER, Easthausen, I, et al. Donor age and early graft failure after lung transplantation: a cohort study. *Am J Transplant* 2013; 13:2685.
137. Bittle, GJ, Sanchez, PG, Kon, ZN, et al. The use of lung donors older than 55 years: a review of the United Network of Organ Sharing database. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32:760.
138. Burton, CM, Iversen, M, Milman, N, et al. Outcome of lung transplanted patients with primary graft dysfunction. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007; 31:75.
139. Todd, JL, Palmer, SM. Bronchiolitis obliterans syndrome: the final frontier for lung transplantation. *Chest* 2011; 140:502.
140. Fiser, SM, Tribble, CG, Long, SM, et al. Ischemia-reperfusion injury after lung transplantation increases risk of late bronchiolitis obliterans syndrome. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:1041.

141. Huang, HJ, Yusem, RD, Meyers, BF, et al. Late primary graft dysfunction after lung transplantation and bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2008; 8:2454.
142. Lederer, SR, Friedrich, N, Banas, B, et al. Effects of mycophenolate mofetil on donor-specific antibody formation in renal transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19:168.
143. Kanter Berga, J, Pallardo Mateu, LM, Beltran Catalan, S, et al. Donor-specific HLA antibodies: risk factors and outcomes after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43:2154.
144. Kamar, N, Del Bello, A, Congy-Jolivet, N, et al. Incidence of donor-specific antibodies in kidney transplant patients following conversion to an everolimus-based calcineurin inhibitor-free regimen. *Clin Transplant* 2013; 27:455.
145. Cooper, JE, Gralla, J, Cagle, L, et al. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation* 2011; 91:1103.

## **7. Danksagung**

Herrn Privat-Dozent Dr. med. Neurohr danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die wissenschaftliche und konstruktive Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit.

Herrn Privat-Dozent Dr. med. univ. Nikolaus Kneidinger danke ich für die stets freundliche, hervorragende Betreuung sowie für die Unterstützung während der Durchführung, Auswertung und Anfertigung der Dissertation. Ebenso möchte ich mich bei Frau Dr. Teresa Kauke für die hilfsbereite Unterstützung und gute Betreuung bei der Dissertation bedanken. Privat-Dozent Dr. med. Georgios Meimarakis danke ich vielmals für die freundliche Einführung in den SPSS-Syntax. Weiterhin bedanke ich mich bei dem gesamten Team der Munich Lung Transplant Group für die umfassende Unterstützung.

Großer Dank gilt nicht zuletzt meiner Familie, die mir nicht nur durch die finanzielle Unterstützung das Medizinstudium und die Dissertation überhaupt erst ermöglicht haben.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Martin, Benedikt

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

### **Lungentransplantation: Über die Bedeutung von HLA-Antikörpern für das Bronchiolitis obliterans Syndrom unter Berücksichtigung bekannter Risikofaktoren**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Augsburg, 12.3.2018

Benedikt Martin

---

Ort, Datum Unterschrift Doktorandin/Doktorand